簡單ナル嫌氣性菌ノ一培養手段ニ就テ

(H. T. Fortnermodification ノ紹介)

第1編 H. T 培養法ニヨル嫌氣性菌ノ斜面培養手段ニ就テ

京城帝國大學醫學部微生物學教室 (主任 細川教授)

崔 村 瑤 植

Keishoku Takamura

(昭和15年10月14日 受付)

(本論文ノ要旨ハ昭和16年4月第15回日本聯合微生物學會ニ於テ發表セリ)

【内 容 抄 録】

靈菌，大腸菌，綠膿菌，枯草菌，馬鈴薯菌，變形菌，納豆菌等各種ノ通性嫌氣性菌中特ニ靈菌大腸菌ガ周圍五斯めちうむ中ノ酸素吸收能力最大ナル事ヲ本H, T 培養法ニ依リ比較實驗シ以テ之ノ通性嫌氣性菌ノ生物學的性狀ヲ應用シ，本培養裝置タル大試験管内ニ普通寒天培地ヲ分注斜面トナシ靈菌ヲ塗抹スルカ，或ハソノ代用品培地タル硝子粒，砂顆粒，織物屑ニ靈菌加ふいよん液少量ヲ注加シ，小試験管ニハ偏性嫌氣性菌好適培地ヲ入レテ斜面トナシ嫌氣性菌ヲ塗抹シごむ栓，布片等ヲ以テ大小試験管ニ挿入固定シ，固形ばらふいんニテ封ジ37°C48—72時間培養ニ於テ各偏性嫌氣性菌ハ充分培養ノ目的ヲ達シ得ラレ，而カモ他種嫌氣性培養法ニ比シ何等ノ遜色ナキヲ認メ，併セテ該H, T培養法ニヨリ放線狀菌ヲ9—10日間培養ニ於テ容易ニ分離培養シ得タリ。

目 次

第1章 緒言並ニ文献の考察	第1項 實驗材料並ニ實驗方法
第2章 H T 嫌氣性培養裝置ノ構造及使用方
法	第2項 實驗成績及ビ小括
第1節 材料及ビ構造	第3節 各通性嫌氣性菌，偏性嫌氣性菌發
育能力比較實驗
第2節 使用方法	第1項 實驗材料及實驗方法
第3節 使用時ノ注意	第2項 實驗成績及ビ小括
第3章 供試菌株	第4節 普通寒天培地ト各代用品培地トノ
酸素吸收能力比較實驗
第4章 通性嫌氣性菌ヲ應用セル豫備實驗	第1項 實驗材料及實驗方法
第1節 供試菌株	第2項 實驗成績及ビ小括
第2節 各通性嫌氣性菌ノ發育狀態及酸素
吸收力比較實驗	第5節 普通寒天培地ト各代用品培地トノ

量ニヨル偏性嫌氣性菌發育能力比較	第1項 實驗材料及ビ實驗方法
第1項 實驗材料及實驗方法	第2項 實驗成績及ビ小括
第2項 實驗成績及小括	第4節 各種培養法ノ菌發育比較實驗
第6節 普通寒天培地ト各代用品培地トノ偏性嫌氣性菌發育能力比較實驗	第1項 實驗材料及ビ實驗方法
第1項 實驗材料及ビ實驗方法	第2項 實驗成績及ビ小括
第2項 實驗成績及ビ小括	第5節 Zeissler 氏2%葡萄糖血液寒天培地上ニ於ケル各種培養法ノ菌發育ニ要スル時間ノ比較
第5章 實驗成績	第1項 實驗方法
第1節 各種培地斜面上ニ於ケル偏性嫌氣性菌ノ發育狀態	第2項 實驗成績及ビ小括
第1項 實驗材料及ビ實驗方法	第6節 H.T 培養法ニヨル嫌氣性菌ノ聚落所見及ビ形態學的性狀
第2項 實驗成績及小括	第7節 H.T 培養法ニヨル放線狀菌ノ培養
第2節 Zeissler 氏2%葡萄糖血液寒天斜面上ニ於ケル各嫌氣性菌ノ發育時間	第1項 實驗材料及ビ實驗方法
第1項 實驗方法	第2項 實驗成績及ビ小括
第2項 實驗成績	第6章 總括
第3節 各種嫌氣性培養法ニ於ケル酸素消費能力比較實驗	第7章 各種嫌氣性培養法ノ批判
	第8章 結論
	参考文献

第1章 緒言並ニ文献の考察

抑々嫌氣性菌ノ研究ハ1863年 *Pasteur*⁽¹⁾ガ瓦斯壞疽病ノ原因トシテ *Bac. Butyricus*ヲ發見シタルニ初マリ、次イデ *Bollinger*⁽²⁾(1875) u. *Feser*⁽³⁾(1876)ガ *Bac. Chauvei*ヲ發見シ、更ニ *Pasteur* u. *Joubert*⁽⁴⁾(1877)モ *Pararanschbrandbacillus*ヲ分離シ、*Novy*⁽⁶⁾(1894)及其後 *Weinberg* u. *Séguin*⁽⁶⁾ニヨリ *Novyscher Bacillus*ヲ發見シ、更ニ *Welch* u. *Nuttall*⁽⁷⁾(1892)ニヨリテ *Bac. Welchii*ガ發見セラレテ以來幾多ノ研究業績ノ發表アリシモ、特ニソノ重要性ヲ認識セラレタルハ、第1次歐洲大戰ニ際會シテ各種ノ嫌氣性菌侵入ニヨル創傷傳染病患者ノ多數發生ヲ見タル以後ニシテ今ヤ一段ノ進歩發展ヲ來シ實用ノ域ニ達シ、嫌氣性菌ノ研究課題ハ細菌學ノ一分野ヲ劃セントスルニ至レリ。

歐洲大戰ノ初期ニ嫌氣性菌ノ侵入ニヨル Gasoedemノ發生率ハ軍隊ノ總テノ外傷中獨軍ニ於テ *Morwedel*⁽⁸⁾(1918)ハ2.3%, *Busch*⁽⁹⁾(1917)ハ1.2%, *Franz*⁽¹⁰⁾(1917)ハ0.3—2%ト報ジ、佛軍ニ於テ *Ivens*⁽¹¹⁾ハ6.3%, *Chalier*⁽¹²⁾ハ1.3%ト報ジ、英軍ハ12%ヲ占メタリト。而シテ其等3軍ノ平均發生率ハ0.3—1.3%ニ過ギザルモ其ノ死亡率ハ14—69%ヲ示シタルヲ以ツテ、當時各國軍隊共ニ突發的一大恐慌ニ達シ、之レニ對スル豫防及ビ治療ニ日夜汲々タルノ狀ヲ呈セリ。

本邦ニ於ケル戦傷者中瓦斯瘰疽患者ノ發生率ハ陸軍兵士ニ於テ日清戰役時4例、北清事變ニ於テ2例(篠尾)⁽¹³⁾、日露戰役ニ於テハ瓦斯蜂窠織炎トシテ28例⁽¹⁴⁾ニシテ戰傷總數ノ0.17%ニ當ルト云ヘリ。又昭和3年濟南事變ニハ總數8例(衛生史)⁽¹⁵⁾ニシテ戰傷總數ノ3.05%ニ相當セリ。又昭和7年上海事變ニ於テハ我陸軍戰傷者ニシテ數名ノ瓦斯瘰疽患者アリテ之ノ材料ニ就イテ佐々木⁽¹⁶⁾ハ *Bac. Welchii* 3株, *Bac. Putrificus Tenuis* 1株 *Bac. Amylobacter* 1株, *Bac. Sphenoides* 2株, *Novyscher Bacillus* 2株ヲ分離シタリト云フ。如斯基 *Gas-oedem* ノ病原體ハ *Aschoff* ガ土壤中ニ存在スル嫌氣性菌ノ創傷傳染ニ由來セラルルト提議シテヨリ、次イデ *Zeissler u. Rossfeld*⁽¹⁷⁾ (1928) ガ詳細ナル土壤内嫌氣性菌ノ研究ヲナシ、茲ニ始メテ嫌氣性菌研究史上一大異彩ヲ呈スルニ至リタリ。

今 *Zeissler u. Rossfeld* 兩氏ノ土壤檢索200例ニ就テノ嫌氣性菌檢出率ヲ記スレバ次ノ如シ。

Bac. Welchii 100%, *Bac. Putrificus Verrucosus* 80%, *Bac. Amylobacter* 70%, *Novyscher Bacillus* 64%, *Tetanusbacillus* 27%, *Tetanomorphus* 20%, *Bac. Cochlearius* 13%, *Pararauschbrand-Bacillus* 80%, *Botulinus Bacillus* 60%, *Bac. Sphenoides* 40%, *Bac. Histolyticus* 20%ヲ檢出ス。

本邦ニ於テモ佐々木⁽¹⁸⁾ハ金澤地方ノ土壤160例ニ就テ、*Bac. Welchii* 100%, *Bac. Putrificus Verrucosus* 70.6%, *Bac. Putrificus Tenuis* 20.6%, *Bac. Amylobacter* 65%, *Novyscher Bacillus* 56.9%, *Pararauschbrand-Bacillus* 20.6%, *Bac. Tetanomorphus* 14.3%, *Bac. Tetani* 37.5%, *Bac. Sphenoides* 18.7%, *Bac. Cochlearius* 1例ノ10菌種ヲ分離セリト云フ、之ヲ *Zeissler u. Rossfeld* ノ檢出率ニ比較スレバ多少ノ差異ヲ見ルモ、大略近似ノ成績ヲ收メタリ。又大久保、内野⁽¹⁹⁾ハ上海事變ニ際シテ海軍陸戰隊員ニ發生セル瓦斯瘰疽患者ヨリ *Bac. Welchii*, *Novyscher Bacillus* *Bac. Putrificus Verrucosus*, *Bac. Putrificus Tenuis* *Bac. Amylobacter*, *Bac. Histolyticus* ヲ分離シ、更ニ大久保⁽²⁰⁾ハ上海附近ノ土壤中ヨリ *Bac. Welchii*, *Bac. Amylobacter*, *Bac. Putrificus Verrucosus*, *Bac. Putrificus Tenuis*, *Bac. Histolyticus*, *Bac. Cochlearius* *Novyscher Bacillus*, *Bac. Sphenoides* ヲ檢出シタリト云フ。而シテ他方人及鳥獸ノ腸管内及糞便ニハ *Gas-oedem* ノ病原性嫌氣性菌及非病原性嫌氣性菌ノ存在ヲ證明シタル報告ハ極メテ多ク、*Torrey*⁽²¹⁾, *Löhr u. Rossfeld*⁽²²⁾, *Van der Reis*⁽²³⁾, *Davidson*⁽²⁴⁾, 岡⁽²⁵⁾, 白石⁽²⁶⁾, *Nanna Svendsen*⁽²⁷⁾等ハ人ノ腸管内及糞便中ノ嫌氣性菌ニ就テ發表シ、竹下⁽²⁸⁾, *Ruppert u. Rottgardt*⁽²⁹⁾等ガ牛、馬、羊、犢、犬、鼠、家兎、海狸等ノ哺乳動物及ビ鶏ノ腸管内及糞便中ニ病原性及非病原性嫌氣性菌ヲ證明シタル等多數ノ文献アリ。

又 *Wilhelm-Löhr*⁽³⁰⁾ハ人ノ腸管内ニ存在スル *Bac. Welchii*, *Novyscher Bacillus* ニヨル腹

腔臟器ノ疾患ニ關スル業績ヲ報ジ、佐々木⁽¹⁸⁾ハ人糞便中ヨリ、Bac. Welchii 100%, Novy-scher Bacillus 5%, Pararauschbrandbacillus 5%, Bac. Putrificus 5%ヲ檢出セリト云ヒ、又 Pieming⁽⁶¹⁾ハ羊腸管内ヨリ Bac. Welchii 100%, Novy-scher Bacillus 80%, Bac. Putrificus Verrucosus 65%, Bac. Putrificus Tenuis 90%, Bac. Multifementans 85%ヲ證明シ土壤ヨリ檢出率ガ高率ナル事ヲ報告セリ。

以上ノ如ク嫌氣性菌ノ分布ハ實ニ擴大ナルモノニシテ土壤ヲ初メトシ水殊ニ汚水中ニ認メラレ、牡蠣魚簇ニモ存在スルト云フ。如斯嫌氣性菌ハ平時戰時ヲ問ハズ人體及動物體ニ侵入スルハ該菌ガ地上普ク散在シテ凡ユル物體ヲ介シテ傳染シ得ルニヨルナルベシ。斯ノ如クシテ嫌氣性菌ガ或ル條件ノ下ニ於テ人體及動物體ニ瓦斯瘰癧其他ノ疾患ヲ發生スルモノナリト思考サル。

要之スルニ嫌氣性菌ハ吾人ノ日常生活ニ密接ノ關係ヲ有シ土壤ヲ初メトシ動物、人間ノ腸管内及其他病變部位、被服食物ニ至ルマデ廣ク分布シ或ル條件ノ下ニ單獨或ハ混合感染ヲ來シ直接創傷傳染病ヲ惹起シ或ハ消化器損傷ニ際シテ大腸菌ト共ニ腹腔組織内ニ侵入シ腹膜炎及其他ノ疾患ノ原因ヲナスヲ以テ本菌簇ハ細菌學の並ニ臨床的タルト且ツ獸醫學的、農藝學的の方面タルトヲ問ハズ重要視サルベキハ論ナシト雖モ、今日尙好氣性菌ノ進歩發達ニ比スレバ極メテ遅々タル状態ニシテ、之レ其分離培養ノ繁雜ニシテ純粹菌ノ檢出容易ナラザルニ因スル所大ナリト云フベシ。

然ルニ嫌氣性菌ノ生活並ニ發育ガ酸素ト一定ノ關係ヲ有スルコトハ既ニ1861年 Pasteur ニヨリテ發見セラレテ以來劇然トシテ好氣性菌簇ヨリ區別セシレタリ。

即チ普通大氣中ニ於テハ發育セズ酸素ノ皆無若クハ普通大氣ノ氣壓ヨリモ遙カニ低キ分壓ノ下ニノミ發育シ得ル細菌ニシテ、之ガ培養ニ當リテハ周圍ノ瓦斯めちうむ中ヨリ酸素ヲ除去スルヲ以テ第一義トシ、之ニ基キテ種々ナル培養法ガ考案セラルルニ至レリ。

從來ヨリ嫌氣性菌ノ培養法トシテ考案使用セラルルモノヲ列擧スレバ次ノ如シ。

1) 重 層 法

本法ハ培養基上ニ流動ばらふいん、寒天等ヲ重層シテ外氣トノ接觸ヲ遮斷スルモノナリ。⁽³²⁾⁽³³⁾⁽⁴⁾

2) 眞 空 法

本法ハ培養操作ヲ行ヒタル容器ニ排氣ぼんぶヲ接續シ之ニ依リテ槽内ヲ眞空ナラシメル方法ナリ。破損ノ憂ト操作ノ嚴密ナルニヨリ廣ク用ヒラレズ。

3) 減 壓 法

嫌氣性菌ノ發育ハ有害ナル瓦斯ノ存在セザル限り酸素分壓低キ寡圍境ニ於テ發育可能ナルヲ以テ培養基ヲ入レタル硝子鐘ヲ排氣ぼんぶニ接續シ鐘内ノ壓力ヲ適宜低減セシムル方法ナ

リ。(35)(36)(37)

本培養法ニヨル一般嫌氣性菌ノ適當内壓ハ20—40mm, 水銀柱ニシテ10mm以下ノ低壓ノ下デハ一般ニ發育可良ナラズト云フ。(38)(39)

4) 空 氣 置 換 法

本法ハ培養槽内ノ空氣ヲ水素或ハ窒素瓦斯ヲ以テ置換スルモノニシテ好ンデ水素瓦斯⁽⁴⁰⁾⁽⁴¹⁾ガ使用セラル。又北里氏平板培養壘及ビ *Botkin* 氏嫌氣性培養器アリ。

5) 酸 素 吸 收 法

本法ハ培養槽或ハ培養基質内ノ酸素ヲ化學的藥劑或ハ特殊方法ニヨリ吸收除去スルモノニシテ種々ノ方法アリ, 今ソノ概略ヲ述レバ,

イ) 硫化ソーダぶいよん培養法 ⁽⁴²⁾⁽⁴³⁾⁽⁴⁴⁾⁽⁴⁵⁾

培養基質殊ニ液體培養基中ニ臓器, Cystein, 硫化鐵, 硫化曹達, 硫酸あんもにうむ, 硫化鐵あんもにうむ, 蟻酸ソーダ等ヲ附加シ嫌氣性菌ヲ移植ス。

ロ) *Hilgermann*⁽⁴⁶⁾氏法

本法ハ黃磷ノ酸素ニ對スル親和力ノ強大ナル性質ヲ應用シテ液體培養基内ニ一小塊ノ黃磷ヲ投ジ菌ヲ移植シテ好氣的ニ培養ヲ行フモノナリ。

ハ) 臓 器 法

現今廣ク使用セラルル *Leberbouillon*(*Tarozzi*)⁽⁴⁷⁾ノ肝臓片, *Hirnbrei* (*v. Hible*)⁽⁴⁸⁾ノ腦組織, *Wzosek*⁽⁴⁹⁾⁽⁵⁰⁾ノ創見ニカカル植物組織片等ヲ添加シテ培養スルモノナリ。之レ組織中ニ含有スル還元性物質則チ *Glutathion*, *Cystein* ノ作用ヲ利用シ以ツテ培養質内ヲ無酸素ノ状態ニ置カントスルニ基ク。

ニ) Cystein Bouillon 培養法

Cystein ヲ *Bouillon*⁽⁵¹⁾⁽⁵²⁾中ニ加フルニアリ。

ホ) ビタミンC加ぶいよん培養法

Vitamin C ヲ使用シテ嫌氣性菌ノ培養ヲ試ミタルモノニハ *Ehrismann*⁽⁵³⁾, 中村⁽⁵⁴⁾, 佐多⁽⁵⁵⁾, *Kligler u. Guggenheim*⁽⁵⁶⁾, 井上⁽⁵⁷⁾, 酒井⁽⁵⁸⁾等アリ。之レ *Ascorbin* 酸ノ還元性ヲ應用シぶいよんニ種々ノ濃度ニ加ヘテ菌ヲ移植培養ニ附ス

ヘ) 觸 媒 法

Palladiumschwamm⁽⁵⁹⁾⁽⁶⁰⁾或ハ *Palladium Asbest* ノ觸媒作用ニヨリテ培養槽内或ハ培養液内ノ酸素ヲ消失セシメ以テ嫌氣性培養ノ目的ヲ達スルモノナリ。

ト) *Buchner* 氏法及其變法

Buchner (1888)⁽⁶¹⁾ハ焦性沒食子酸ニ苛性あるかりヲ加フル事ニ依リ培養器雰圍圈内ノ酸

素ヲ吸收除去セントセリ。本 *Buchner* 氏原理ニ基キ *Manteufel*⁽⁶²⁾、竹内⁽⁶³⁾、猪方⁽⁶⁴⁾、田島⁽⁶⁵⁾、松下⁽⁶⁶⁾、登倉⁽⁶⁷⁾等ノ幾多改良法アリテ共ニ液體並ニ固形培養ニ使用スルヲ得。

チ) 黃 磷 燃 燒 法

現今固形嫌氣性培養法トシテ多く使用セラルルモノニシテ硝子槽内ニ於テ黃磷ヲ燃焼セシメ瓦斯めちうむ中ノ酸素ヲ消失セシムル方法ニシテ *Sellards* (1904)⁽⁶⁸⁾⁽⁶⁹⁾⁽⁷⁰⁾ニヨリ創始使用サレタリ。

リ) *Fortner* 氏法

Fortner (1928)⁽⁷¹⁾ハ *Weigmann* (1925)⁽⁷²⁾ガ大腸菌ノ併合培養ニ於テ瓦斯壞疽菌ヲ培養セルガ如ク *Bac. Prodigiosus* ノ生物學的性狀ヲ應用シテ雰圍圈内ノ酸素ヲ吸收セシメ嫌氣性培養ニ成功シタリ。即チ *Fortner* 氏しやーれ平板ノ構造ハ内徑 9 cm, 内高 1 cm ヲ有シ, 0.8 cm ノ障壁ニヨリ 2 等分ニ仕切リタルモノニシテ、之レヲ倒置密封スル爲約 11 cm 平方ノ硝子盤ヲ用意シ置ク、先ヅ *Fortner* 氏しやーれノ 1 側ニハ約 10 cc ノ普通寒天又ハ葡萄糖加寒天ヲ入レ、*Bac. Prodigiosus* ヲ培養シ他側ニハ嫌氣性培養基ヲ入レ嫌氣性菌ヲ塗抹培養シ之レヲ硝子盤ニ倒置セシメ、周圍ヲわぜりん或ハ固形ばらふいんニテ密封シ外界ト遮斷シテ 37°C 孵卵器ニ入レ培養スルモノナリ。

以上ノ如ク種々ノ嫌氣性菌培養方法ニ就テ記載發表アリシガ、是等從來使用サル諸種培養法ニハ一長一短アルハ免レズ。即チ以上記載ノ如キ嫌氣性培養方法ハ周知ノ如ク種々ノ培養要約ニヨリ複雑ナル裝備ト手技トヲ要スルモノニシテ、設備完全ナル研究室以外ハ之レヲ取扱ヒ得ザルノ憾ミアリ。

且ツ時局ハ物資不足ヲ來セルニモ拘ハラズ、他方嫌氣性菌ノ創傷傳染ニヨル瓦斯壞疽及其他ノ疾患ニ對スル研究ハ東西共ニ益々必要性ヲ加フルニ至リタルヲ以テ、余ハ近年當教室主任ノ嫌氣性菌培養法ノ研究命令ニヨリ先ヅ從來ノ嫌氣性培養方法ヲ文献ニ就キ比較檢討シ、其中最モ實用的ナル *Fortner*⁽⁷¹⁾ 氏培養法ニ着目シタレドモ *Fortner* 平板入手困難ナル今日之レヲ如何ニスベキカニ就テ主任ノ指導ノ下ニ研究ヲ重ネタルニ漸クニシテ臨床醫家ノ利用ニモ適セシムベク費用ノ低廉ナル且又操作ノ簡便ニシテ設備不完全ナル場所ト雖モ嫌氣性培養ノ目的ヲ充分達シ得ベキ新培養法ヲ案出シ得タルヲ以テ該培養法及其成績ヲ報告シ大方諸賢ノ御高教ヲ仰ガントス。

聊カタリトモ資スル所アラバ余ノ幸之ニ過グルモノナシ。

第 2 章 H. T. 嫌氣性培養裝置ノ構造及使用方法

第 1 節 材料及ビ構造

本装置ノ材料及構造ハ頗ル簡單ナリ。即チ大小2本ノ培養試験管ヲ組合セル事ニヨリテ所期ノ目的ヲ達シ得ルナリ。本装置ノ材料タル大小試験管ハ特別ニ新調スル事ナク從來ヨリ廣ク使用セラルル入手容易ナルモノニシテ余ノ好ンデ使用シタルハ次ノ如シ。

1) 大試験管ハ内徑3cm, 全長21cm, 内容積130cc ノ成ルベク操作中破損セザル硬質硝子ナリ。

2) 小試験管ハ内徑2cm, 全長17.5cm, 内容積40cc ノ硬質硝子ナリ。

H.T. 斜面嫌氣性培養法ノ圖解

(註) A 普通寒天培地及細菌培養, B 偏性嫌氣性菌好適培地, C 固形ばらふいん
D 大試験管, E ごむ栓, F 代用栓, G 小試験管。

3) 9號ごむ栓ノ中央ヲ前記小試験管ノ入り得ル程度ニ穿孔器ニテ圓形ニエグリ空洞トナシ或ハごむ栓ノ代用品トシテ縋帶又ハ其他ノ織物等ヲ以テ小試験管口端ノ頸部ニ2—3cmノ幅ニ大試験管内ニ挿入固定シ得ル程度ニ適宜硬ク巻キテ栓トナシ, 何レモ大試験管開口部ニ挿入固定シ固定ばらふいんニテ封ジ外氣ト遮斷ス。

第2節 使用方法

1) 大試験管ハ淨洗シ乾熱滅菌器ニ入レ充分滅菌シ普通寒天培地 (PH 7.2) ヲ所定ノ製法

ニヨリ製シ40 ccヲ注入シ試験管開口縁部2cmヲ残ス處マデ成ルベク廣ク斜面トナシ1晝夜37℃ノ孵卵器ニ入レ倒立セシメ凝縮水ヲ乾燥且ツ培地ヲ堅固ニスルヲ要ス

或ハ寒天培地ノ代用培地トシテ砂顆粒110g, 硝子粒95g或ハ織物屑16gヲ一定方法(後章ニ詳記ス)ニヨリ調製シ大試験管内ニ入レテ各々高サ12 cmノ箇所迄鬆粗ニ高層トナシ乾熱滅菌シ冷却セシメテ使用ス。普通寒天斜面培地ノ場合ハ靈菌18—24時間培養保存菌ヲ2mgノ白金耳ニテ3—4白金耳ヲ斜面ニ漏レナク塗抹シ, 代用培地タル砂顆粒, 硝子粒, 織物屑等ノ場合ニハ18—24時間37℃培養ノ靈菌ヲ(1mg 1cc)ノ比ニ普通ぶいよんニ添加シテ平等ナル浮游液トナシ之ヲ15cc宛 上記代用品培地ニ加ヘ平等ニ濕レル程度トナシテ使用ス。

2) 小試験管ハヨク洗滌シ乾熱滅菌器ニテ滅菌シ偏性嫌氣性菌ノ好適培地(Zeissler 2%葡萄糖血液寒天)ヲ所定ノ製法ニヨリ製シ之ヲ10cc入レテ斜面トナシ1晝夜37℃ノ孵卵器ニ通ジ無菌ナルコトヲ確カメ, 肝ぶいよん48時間培養ノ偏性嫌氣性菌1白金耳ヲ塗抹シ口端ヲ前記ノ圓形ニ穿孔シタル9號ゴム栓ニ挿入シ, 或ハ繃帶其他ノ織物ノ代用栓ヲ卷キ小試験管口端部ヲ大試験管開口内ニ挿入固定シ, 固定ばらふいんヲ以テ栓ノ周圍ヲ固ク封鎖シ外氣ト遮斷セシメ, 37℃ノ孵卵器ニ横位或ハ小試験管ヲ上向キトシテ入レ72時間培養ニ附ス。

3) 砂顆粒, 硝子粒, 織物屑ノ操作

A) 砂顆粒ハ海邊, 江邊等何處ノ砂ニテモ可ナリ, 但砂ノ種類, 換言スレバ顆粒ノ大小ニ依ツテソノ成績ニ異同ヲ生ズベキヲ懼レ余ハ好シク中砂ヲ使用シタリ。即れんく氏⁽⁷⁾ニヨレバ砂ノ實體トソノ氣孔容積トノ割合ハ細砂(直徑0.3 mm以下)ハ55.5%, 中砂(0.3—1.0mm)55.5%, 大砂(1.0—2.0mm)37.9%ナリトシ, 又砂ノ最少含水量ハ細砂65%, 中砂47%, 大砂23%, 礫7%ト記載サル, 依ツテ顆粒表面ノ比較的大ニシテ而カモ取扱ヒ最も便ナル直徑0.3—1.0 mmノ中砂ヲ金網篩ヒニテ撰定シ數回水洗後, 石鹼水ニテ洗ヒ再ビ水ヲ以テ石鹼分ヲ去リ, 次イデくろむ硫酸ニテ約30分浸漬, 後充分水洗シテ種々ナル不純物ヲ完全ニ除去シタリ。

之ヲ乾熱滅菌器ニテ乾燥セシメ用ニ臨ミ此ノ110gヲ大試験管ニ入レ綿栓ヲ附シテ乾熱滅菌ス, 冷後之ニ靈菌浮游ぶいよん液(1mg1ccノ割ニ靈菌ヲ普通ぶいよんニ浮游セシメタモノ)15ccヲ滅菌びべつとニテ平等ニ注入シテ培養ニ供ス。

B) 硝子粒ヲ得ルニハ硝子製品ノ硬軟質ヲ問ハズ硝子類ノ廢物ヲ集メ先ヅくれぞーる石鹼液或ハ單ニ石鹼水ニテ煮沸シ, 水洗シテ乾燥器或ハ日光ニテ充分乾燥セシメ次ニ充分細挫シ, 其中ヨリ中粒ヲ撰定スルタメ0.5mmノ篩ヒニテ篩ヒテ0.5mm以下ノ細粒ヲ漏ラシメ, 殘餘ヲ1—1.5 mm目ノ篩ヒヲ用ヒテ落下スル硝子粒ヲ集メ, 次ニ砂ノ場合ト同様ニくろむ硫酸液等ニテ不純物ヲ除キ水分ヲ充分乾燥セシメ, 95gヲ秤量シ前記ノ大試験管内ニ容レ1cc,

1mgノ靈菌浮游 Bouillon 液15ccヲ注加シ培養ニ供ス。

C) 織物屑 Bouillon 培地

織物ノ材料ハ毛絲、絹絲、麻及ビ木綿ノ4種ニシテ單ニ1種ノ絲ヨリ成ルモノアリ。或ハ2以上ノ絲ヲ混ジテ成ルモノアリ。

余ハ本實驗ニ於テ毛織物或ハ木綿混合織物ヲ使用スルコトトセリ、之ノ織物屑ヲ得ルニハ高價ナル新品ノ織物布ヲ要セズシテ日本服ト洋服地等ノ仕立後ノ廢物ヲ拾ヒ集メ先ヅ缺ニテ約1—2cm²ノ内外ニ細切シ、之レニ含有スル不純物並ビニ色素劑ヲ可及的ニ除去スル目的ニテ漂白粉及ビ稀鹽酸ヲ加ヘタル水ニ浸シテ約30分間充分沸騰セシメタル後洗液無色ニナルマデ水洗シ水分ヲ充分絞リ之ヲ日光或ハ乾燥器中ニテ完全ニ乾燥セシメ、16gヲ秤量シ大試験管内ニ入レ乾熱滅菌シ Bouillon 1cc, 1mgノ靈菌液ヲ15cc添加シテ培養ニ供ス。

第 3 節 使用時ノ注意

1) 大試験管内ノ普通寒天培地及小試験管内ノ嫌氣性培地ハ所定ノ製法ニ依リ調製シタル後培養操作前必ズ試験管底部(綿栓部ヲ下向ク)ヲ上向キニシ斜位或ハ垂直位ニ金網籠ニ入レ24時間孵卵器ヲ通ジ使用スルヲ要ス。之レ凝固水及培養基ヲ乾燥固定セシメ培養時大小試験管内ノ培地破壊移動ヲ豫防センガタメナリ。

2) 偏性嫌氣性菌ノ發育集落ハ互ニ隣接シテ瀰蔓性菌苔トナリ易キヲ以テ、分離培養時ニハ材料ヲ成ルベク少量白金耳ニ取り培地斜面ノ中央部ニ培養基ヲ破損セヌ様丁寧ニ塗抹シ周邊ヲ殘シ置クヲ要ス。

3) 大小試験管口栓部ノ固形ばらふいん封鎖ヲ成ルベク厚ク硬固ニ封スルヲ要ス。之レ培養操作中ばらふいん破裂シ外氣浸入スル憂ヒアレバナリ。

4) 大小試験管ヲ分離スル時ノ操作

培養シ終リタル嫌氣性菌ノ檢査ヲ要スル場合ハ先ヅ組合セタル大小試験管ヲ横位ニ或ハ小試験管ヲ上向キノ斜位ニシ一方ノ手ニ大試験管ヲ持テ他ノ手ヲ以テ輕ク栓ヲネジリ抜き取り檢査ヲナシ、次ニ菌ノ保存ヲ要スル場合ニハ再ビ組合セテ後24時間37°C孵卵器内ニ入レテ大小試験管内ノ瓦斯めちうむ中ノ酸素ヲ吸收消失セシメ、室温或ハ氷室ニ貯藏シ保存ノ目的ヲ達シ得ベシ。

而シテ大試験管内ノ普通寒天培地或ハ砂硝子粒、織物屑ふいんニ培養セル靈菌ハ培地ノ尙ホ營養充分ニシテ菌ノ生存セル期間ハ再ビ新製セズシテ綿栓シ室温或ハ氷室ニ保存シ置キ數回反復使用シ得。

第 3 章 供 試 菌 株

實驗ニ供セシ菌株ハ

1) 偏性嫌氣性菌

金澤醫大谷教授及ビ傳研ヨリ分譲ヲ受ケタル菌株ニシテ *Bac. Welchii* (Zeissler株), *Bac. Amylobacter* (Zeissler 株), *Bac. Sphenoides* (傳研株), *Novyscher Bacillus*, (上海株) *Pararauschbrandbacillus* (Seibaldet 株), *Rauschbrandbacillus* (Bern 株), *Bac. histolyticus* (海軍々醫學校株), *Bac. Putrificus verrucosus* (Zeissler 株), *Bac Putrificus Tenuis* (傳研株), *Bac .Tetani* (Zeissler 株), 以上ヲ肝ふいよんニ培養保存シ特ニ雜菌ノ迷入セザル様細心ノ注意ヲ拂ヒタリ.

2) 通性嫌氣性菌

Staphylococcus albus, *Colibacillus*, *Bac. acidophylus* 何レモ當教室ニ保存ノモノナリ.

第 4 章 通性嫌氣性菌ヲ應用セル豫備實驗

第 1 節 供 試 菌 株

通性嫌氣性菌ノ生物學的性狀ヲ應用シテ嫌氣性培養ヲナスニハ先ヅ通性嫌氣性菌中何レノ菌ガ瓦斯めちうむ中ノ酸素ヲ早く且ツ多量ニ吸收消失シ、且ツ偏性嫌氣性菌ヲ良好ニ發育セシムルカスル菌ヲ選定スルヲ要ス.

供試菌株トシテ、(1) 靈菌、(2) 大腸菌、(3) 綠膿菌、(4) 枯草菌、(5) 馬鈴薯菌、(6) 變形菌、(7) 納豆菌ヲ實驗ニ供シ、何レモ當教室ノ保存菌ナリ.

第 2 節 各通性嫌氣性菌ノ發育狀態及酸素

吸收力比較實驗

第 1 項 實驗並ニ實驗方法

1) 實 驗 材 料

酸素吸收力實驗ニハ酸素標示藥トシテ、めちれんぶらうノ還元性ヲ應用セリ.

從來種々ノ報告アルモ重ナルモノヲ舉グレバ次ノ如シ.

A) 酸素試液 (*Rijmsdijk*⁽⁶⁾(⁽⁷⁾)氏標示藥)

10%ぐるこーぜ液	4.2cc	} 以上混和液ヲ綿紗ニ浸潤セシメテ使用ス
定規苛性曹達溶液	0.1cc	
めちれんぶらう液 (めちれんぶらう 0.05g)	0.1cc	
(蒸溜水 30.00cc)		

B) *Fildes* u. *Mc. Intosh*^(7c)氏標示藥

甲液 苛性曹達溶液6.0cc=蒸溜水ヲ附加シテ100ccトナス.

乙液 0.5%めちれん青水溶液3.0cc=蒸溜水ヲ附加シテ100ccトナス.

丙液 葡萄糖6.0g=蒸溜水ヲ附加シテ100ccトナシ之レ=ちもゐるノ小塊ヲ投ズ.

以上ノ3溶液ヲ作り置き用ニ臨ミ新シク等量宛混合シテ使用ス.

C) Ruzicka⁽⁷⁷⁾(⁹⁸)氏法

1%石炭酸水溶液 50cc

20%結晶曹達溶液 5cc

葡 萄 糖 0.1g

いんちご硫酸溶液 0.5cc

以上ヲ混合シ振盪シテ用フ.

先人ノ文献ニヨレバめちれんぶらうハ $\frac{2}{5}$ mmHg⁽⁶⁷⁾ノ酸素張力ニ於テ還元脱色サルル如シ, Kruseニ從ヘバ *Bacillus Butyricus* ハ遊離酸素ニ對シ最敏感ニシテ本菌ヲ以テシテモ1mmHgノ酸素張力ニ於テ發育シ得ルト稱ス. 故ニめちれん青ノ脱色($\frac{2}{5}$ mmHg)シ得ル状態ニ於テハ何レノ嫌氣性菌タルヲ問ハズ培養ノ目的ヲ達シ得ラレルモノト信ズ. 標示藥ハ主トシテ(1)及ビ(2)ノ試液ヲ使用シタリ.

2) 實 驗 方 法

上記ノ内徑3.0cm, 全長21cm, 内容積130ccノ同等ノ大試験管7本ニ豫メ普通寒天培地40cc宛ヲ定量分注シ綿栓ニ觸レザル程度ニ廣ク斜面ヲ作り, 又口徑2cm, 全長17.5cm, 内容積40ccノ同等ノ小試験管7本ニ *Zeissler* 氏培地10ccヲ定量分注シ廣ク斜面トナシ, 大試験管内ニ各通性嫌氣性菌ノ普通寒天培地18—24時間培養菌ヲ3白金耳宛斜面ニ漏レナク平等ニ塗抹シ, 小試験管内斜面培地ニハ菌ノ塗抹ヲ行ハズ, 酸素試液ノガーゼ片ヲ小試験管口端ノ頸部外壁ニ貼リ一方内外壁トモ滅菌シタル小試験管ニ *Fildes*⁽⁷⁶⁾ u. *Mc. Intosh* 標示藥ヲ入レ, 之ヲ無菌的ニ大試験管内ノ底部ニ挿入シ, 斯クシテ大小試験管口端ヲ栓ヲ以テ絞上ノ如ク固封シ37°Cノ孵卵器内ニ納メ3時, 4時, 5時, 6時, 8時, 12時, 18時, 24時, 36時, 48時, 72時間等時間的ニ通性嫌氣性菌ノ發育状態及ビめちれんぶらうノ還元脱色度ヲ比較觀察セリ.

第 2 項 實驗成績及ビ小括

成績ハ第1表ニ示サガ如ク實驗ニ供シタル各通性嫌氣性菌ノ發育状態ヲ時間的ニ比較觀察セルニ靈菌大腸菌ハ培養後4—5時間目ニ既ニ發育シ始マリ12時間目ニハ大部分發育ヲ完了シ18—24時間目ニハ發育最高ニ達セリ, 綠膿菌, 枯草菌, 變形菌ハ培養後既ニ5—6時間目ニ發育シ始マリ, 12時間目ニハ發育盛ントナリ, 18—24時間目ニハ發育完成シ, 馬鈴薯菌納豆菌

ハ培養後8時間目ニ始マリ18時間目ニ發育旺盛トナリ、24—36時間目ニ至リ發育完成セルヲ認メタリ。

めちーれんぶらう酸素試液ノ還元脱色度ハ靈菌、大腸菌ハ培養後6—8時間目ニ既ニ微弱ノ還元脱色ヲ始メ18時間目ニハ大部分脱色シ24—36時間目ニハ完全ニ脱色セリ、綠膿菌、枯草菌、變形菌ハ8—12時間目ヨリ脱色シ始マリ24—36時間目ニ大部分脱色シ48時間目ニ至リ完全脱色セラレ、馬鈴薯菌、納豆菌ハ12—18時間目ニ脱色シ始メ36時間目ニハ大部分脱色シ48—72時間目ニ至リ完全脱色消失セルヲ認メタリ。

第 1 表 各通性嫌氣性菌ノ發育速度及ビ酸素消費力比較實驗

培養時間 通性嫌氣性菌 ノ種類トツノ 發育速度及脱色度		3	4	5	6	8	12	18	24	36	48	72
(1) 靈 菌	發育速度	—	±	+	+	+	++	++	++	++	++	++
	脱 色 度	++	++	++	<++	<++	++	+	+	—	—	—
(2) 大腸菌	發育速度	—	±	+	+	+	++	++	++	++	++	++
	脱 色 度	++	++	++	<++	<++	++	+	+	—	—	—
(3) 綠膿菌	發育速度	—	—	—	±	+	++	++	++	++	++	++
	脱 色 度	++	++	++	++	<++	++	+	+	+	—	—
(4) 枯草菌	發育速度	—	—	±	+	+	++	++	++	++	++	++
	脱 色 度	++	++	++	++	<++	<++	++	+	+	—	—
(5) 馬鈴薯菌	發育速度	—	—	—	—	+	+	++	++	++	++	++
	脱 色 度	++	++	++	++	++	<++	++	++	+	—	—
(6) 變形菌	發育速度	—	—	±	+	+	++	++	++	++	++	++
	脱 色 度	++	++	++	++	<++	++	++	+	+	—	—
(7) 納豆菌	發育速度	—	—	—	—	+	+	++	++	++	++	++
	脱 色 度	++	++	++	++	++	<++	++	++	+	—	—

(註) (1) 各菌ノ發育速度欄ノ+++, +, ±, —, ハ各菌發育程度ヲ示シ, ++ハ完全發育+, ±ハ順次程度微弱ナルヲ示ス, —ハ全然發育シ始メザルモノ。

(2) 各菌脱色度欄ノ++, <+, +, —, ハ試験管内ニ於ケルめちーれん青ガ還元セラルル程度ヲ示シ, ++ハ全然脱色セザルヲ示ス, <+ハ++ヨリやや脱色セルモノ, 以下順次望色セラレ, —ハ完全脱色セルヲ示ス。

以上ノ如ク比較觀察セルニ靈菌、大腸菌ガ最モ早ク發育シ且ソ瓦斯めちうむ内ノ酸素吸收力モ最大ナリキ。

第 3 節 各通性嫌氣性菌ノ偏性嫌氣性菌 發育能力比較實驗

第 2 表 各通性嫌氣性菌ノ偏性嫌氣性菌發育能力比較

通性嫌氣性菌種類 培養時間(時)	(1) 糞 菌						(2) 大 腸 菌						(3) 綠 膿 菌						(4) 枯 草 菌						(5) 馬 鈴 菌						(6) 變 形 菌						(7) 納 豆 菌					
	6	12	18	24	48	72	6	12	18	24	48	72	6	12	18	24	48	72	6	12	18	24	48	72	6	12	18	24	48	72	6	12	18	24	48	72						
1) Bac. Welchii	-	+	+	+	+	++	-	+	+	+	+	++	-	+	+	+	+	++	-	+	+	+	+	++	-	+	+	+	+	++	-	+	+	+	+	++	-	+	+	+	+	++
2) Bac. Amylobacter	-	+	+	+	+	++	-	+	+	+	+	++	-	+	+	+	+	++	-	+	+	+	+	++	-	+	+	+	+	++	-	+	+	+	+	++	-	+	+	+	+	++
3) Bac. Sphenoides	-	-	+	+	+	++	-	-	+	+	+	++	-	-	+	+	+	++	-	-	+	+	+	++	-	-	+	+	+	+	++	-	-	+	+	++	-	-	+	+	++	
4) Bac. Novyscher	-	-	+	+	+	++	-	-	+	+	+	++	-	-	+	+	+	++	-	-	+	+	+	++	-	-	+	+	+	+	++	-	-	+	+	++	-	-	+	+	++	
5) Bac. Parauschbrand	-	-	+	+	+	++	-	-	+	+	+	++	-	-	+	+	+	++	-	-	+	+	+	++	-	-	+	+	+	+	++	-	-	+	+	++	-	-	+	+	++	
6) Bac. Rauschbrand	-	-	+	+	+	++	-	-	+	+	+	++	-	-	+	+	+	++	-	-	+	+	+	++	-	-	+	+	+	+	++	-	-	+	+	++	-	-	+	+	++	
7) Bac. Histolyticus	-	-	+	+	+	++	-	-	+	+	+	++	-	-	+	+	+	++	-	-	+	+	+	++	-	-	+	+	+	+	++	-	-	+	+	++	-	-	+	+	++	
8) Bac. Putrificus Verrucosus	-	-	+	+	+	++	-	-	+	+	+	++	-	-	+	+	+	++	-	-	+	+	+	++	-	-	+	+	+	+	++	-	-	+	+	++	-	-	+	+	++	
9) Bac. Putrificus Tenuis	-	-	+	+	+	++	-	-	+	+	+	++	-	-	+	+	+	++	-	-	+	+	+	++	-	-	+	+	+	+	++	-	-	+	+	++	-	-	+	+	++	
10) Bac. Teianus	-	-	+	+	+	++	-	-	+	+	+	++	-	-	+	+	+	++	-	-	+	+	+	++	-	-	+	+	+	+	++	-	-	+	+	++	-	-	+	+	++	

(註) ++, +, ±, -, ハ偏性嫌氣性菌ノ發育程度ヲ示スモノニシテ++ハ菌聚落發育完成セルモノ, ++, +ハ順次發育微弱ニシテ-ハ全然發育セザルモノ

第 1 項 實驗材料及實驗方法

1) 實 驗 材 料

供試菌株 a) 通性嫌氣性菌ハ、靈菌、大腸菌、綠膿菌、枯草菌、馬鈴薯菌、變形菌、納豆菌ノ7種。

b) 偏性嫌氣性菌ハ、Bac. Welchii, Bac. Amylobacter, Bac. Sphenoides, Novyscher Bacillus, Pararauschbrandbacillus, Rauschbrandbacillus, Bac. histolyticus, Bac. Futrificus Verrucosus, Bac. Putrificus Tenuis, Bac. Tetani ノ10菌株。

2) 實 驗 方 法

前記ノ同等ノ各大試験管内ニ所定ノ製法ニ依リ製シタル普通寒天40cc宛ヲ定量分注斜面トナシ、18—24時間培養セル各通性嫌氣性菌ヲ3乃至4白金耳宛斜面培地ニ漏レルトコロナク塗り又同等ノ各小試験管内ニハ所定ノ製法ニ依リ調製セル Zeissler⁽⁷⁾氏葡萄糖血液寒天培地ヲ10cc宛定量分注シ斜面トナシ各偏性嫌氣性菌ノ肝肝ふいよん48時間培養菌ヲ1白金耳町寧ニ塗抹シ大小試験管ヲ組合セ37°C孵卵器ニ入レ、6、12、18、24、48、72、時間的ニ取り出し各偏性嫌氣性菌ノ發育狀態ヲ比較觀察セリ。

第 2 項 實驗成績及小括

第2表ニ示ス如ク各偏性嫌氣性菌ハ、靈菌、大腸菌ヲ應用セル培養ニ於テ極メテ良好ナル發育狀態ヲ示ス。Bac. Welchii, Bac. Amylobacter, Bac. histolyticus ハ12時間目頃ヨリ既ニ微弱ナルころにニ形成ヲ始メ、24時間目ニ至リテハ殆ンド全部固有ノ著明ナル發育ヲ呈スルモ未ダころにニ發育充分ナラズ、48—72時間目ニ至リテハ各菌ノころにニ發育最高ニ達セリ。

次ギニ綠膿菌、枯草菌ヲ應用セル場合ハ、偏性嫌氣性菌ノ發育一般ニ遅ク各菌ハ24時間目ニ至リ始メテ發育シ48—72時間目ニ至ルモ固有ノころにニ發育最高ニ達セザル菌多數アリ。

次ギニ馬鈴薯菌、變形菌、納豆菌ヲ應用セル培養ニ於テハ24時間目ニ至ルモ發育セザル菌多ク48乃至72時間目ニ至リテモ多數ノ菌ハ未ダ微弱ナ發育ヲ呈スルニ止マル。

以上ノ各通性嫌氣性菌ヲ比較培養實驗シタルニ、靈菌、大腸菌ヲ應セル培養ニ於テ、各偏性嫌氣性菌ガ最モ早ク發育シ始マリ、且ツ最モ短時間内ニ發育最高ニ達セルヲ確カメタリ。故ニ兩菌共多數ノ實驗ヲ遂行スル上ニ極メテ適當ナレドモ、余ハ爾後 H T 嫌氣性培養法ニ於テハ特ニ便宜上靈菌ヲ使用スルコトトセリ。

第 4 節 普通寒天培地ト各代用品培地トノ

酸素吸收能力比較實驗

第 1 項 實驗材料及ビ實驗方法

前述ノ如キ内徑3.0cm, 全長21cm 内容積130cc ノ大試験管16本ヲ準備滅菌シ, 4本宛4組ニ分チ, 其中ノ1組ニハ所定ノ方法ニヨリテ調製セル(1)普通寒天培地ヲ40cc, 35cc, 30cc, 25ccノ階段のニ定量分注シ斜面トナシ18—24時間培養セル靈菌ヲ各斜面ニ漏レル所ナク塗布シ, 其他ノ各組試験管ニハ, 前述ノ方法ニヨリ得タル(2)硝子粒ハ95g(高サ12cm), 85g(高サ10.5cm), 75g(高サ9cm), 65g(高サ7.5cm), (3)砂顆粒ハ110g(高サ12cm), 95g(高サ10.5cm), 80g(高サ9cm), 65g(高サ7.5cm), (4)織物屑16g(高サ12cm), 13g(高サ10.5cm), 10g(高サ9cm), 7g(高サ7.5cm)等ノ階段のニ秤量シテ加ヘ, 乾熱滅菌セシメテ冷却ヲ待ち, 別ニ調製セルぶいよんヲ以テ1.0cc, 1mgノ比ニ靈菌浮游菌ヲ作り, 代用品ヲ入レタル各組試験管ニ夫々15.0cc, 13.0cc, 10.0cc, 7.0cc宛ヲ添加シ各部分ガ濕メル程度トナス. 又内徑2cm, 長サ17.5cm, 内容積40ccノ小試験管16本ニハ Zeissler 2%葡萄糖血液寒天10cc宛ヲ定量分注シ斜面ヲ作り, 酸素試液ノガーゼ片及ビ小試験管ニ入レタル標示藥ヲ大試験管内ニ入レ栓ヲ以テ各大小試験管開口部ヲ固定シ栓ノ周圍ヲ固形ばらふいんニテ封鎖シ37°Cノ孵卵器内ニ納メ各組ヲ6, 12, 18, 24, 36, 48, 72時等ノ時間的ニ取出シめられん青ノ還元脱色セル程度ヲ比較觀察セリ.

第 2 項 實驗成績及ビ小括

第 3 表 寒天斜面培地ト各代用品培地トノ酸素吸收能力比較

培地種類	細菌ぶいよん液量(cc)	培地ノ量及ビ體積	培養時間(時)							
			6	12	18	24	36	48	72	
普通寒天培地		1) 40.cc	<⧻	⧻	+	+	-	-	-	
		2) 35.cc	⧻	<⧻	⧻	⧻	+	-	-	
		3) 30.cc	⧻	<⧻	<⧻	⧻	⧻	+	-	
		4) 25.cc	⧻	⧻	<⧻	⧻	⧻	+	+	
硝子粒「ぶいよん粒」	15. cc	1) 95 g 12cm	<⧻	<⧻	⧻	+	-	-	-	
	13. cc	2) 85.g 10.5cm	⧻	<⧻	⧻	⧻	+	-	-	
	10. cc	3) 75.g 9.cm	⧻	⧻	<⧻	<⧻	⧻	+	-	
	7. cc	4) 65.g 7.5cm	⧻	⧻	<⧻	<⧻	⧻	⧻	+	
砂顆粒「ぶいよん粒」	15. cc	1) 110.g 12.cm	⧻	<⧻	⧻	+	+	-	-	
	13. cc	2) 95.g 10.5cm	⧻	<⧻	<⧻	⧻	+	+	-	
	10. cc	3) 80.g 9.cm	⧻	⧻	<⧻	<⧻	⧻	⧻	+	
	7. cc	4) 65 g 7.5.cm	⧻	⧻	⧻	<⧻	<⧻	⧻	+	
織物屑「ぶいよん屑」	15. cc	1) 16.g 12.cm	⧻	<⧻	⧻	+	+	-	-	
	13. cc	2) 13.g 10.5cm	⧻	<⧻	⧻	⧻	+	-	-	
	10. cc	3) 10.g 9.cm	⧻	⧻	<⧻	<⧻	⧻	⧻	+	
	7. cc	4) 7 g 7.5cm	⧻	⧻	⧻	<⧻	<⧻	⧻	+	

(註) 卅, <卅, 卅, +, -ハ第1表ノ脱色度欄ノ(註)ニ同ジ.

第3表ニ示スガ如ク各培地ノめちれん青還元脱色ノ割合ハ何レモ培地ノ量ニ比例シ、且ツ試験管内培地體積ノ高サ大ナルニ從ヒ著明ナリ。即チ普通寒天培地ハ40cc硝子粒ぶいよんハ95g(高サ12cm), 砂ぶいよん110g(高サ12cm), 織物屑ぶいよんハ16g(高サ12cm) 培地ニ於テハ何レモ6乃至12時間目ニ既ニめちれん青ヲ還元脱色シ始マリ、24—36時間後ニ至リテハ完全ニ還元脱色ヲ示ス、之レニ次ギテ各種培地ノ各々ノ第2列ハ還元脱色ノ程度前者ニ比シ稍々劣弱ナルモ12—18時間目ニシテ始マリ36—48時間目後ニハ殆ンド完全脱色ヲ呈ス、各第3—4列目ハ表ニ示ス如ク還元脱色スルモ極メテ緩徐且ツ劣弱ニシテ18—24時間後ニ至リ漸ク脱色シ始メ、48—72時間後ニモ完全ナル脱色ヲ示サズ、即チ培地ノ何種タルトヲ問ハズ各1番目ノ量及ビ體積ニ於テ還元及脱色作用最早ク發現シ、從ツテめちうむ内ノ酸毒ヲ急速ニ消失セシメル作用ヲ有ス

第5節 普通寒天培地ト各代用品培地トノ量ニ

ヨル偏性嫌氣性菌發育能力比較

第1項 實驗材料及實驗方法

前節ノ實驗ニ供シタル各培養術式ニ於テ各組ノ小試験管内 Zeissler 2%葡萄糖血液寒天斜面ニ肝ぶいよん37°C, 48時間培養シタル偏性嫌氣性菌, *Bac. Sphenoides*, *Bac. histolyticus*, *Bac. Putrificus Verrucosus*, *Bac. Tetani* ノ4株ヲ1白金耳宛丁寧ニ塗抹シ組立ノ操作ヲナシ、37°Cノ孵卵器ニ收メ、6, 12, 24, 48, 72時間目ノ5回ニ亘リ孵卵器ヨリ取出シ、各培地中何レノ組ニ於テ菌ガ最も早く且ツ完全ナル聚落形成ヲナスヤヲ比較觀察セリ。

第2項 實驗成績及小括

第4表ニ示スガ如ク各培地中何レノ組ニ於テモ培養後第6時間目ニハ全ク嫌氣性菌ノ發育ヲ認メズ、12時間目ニハ各培地中第1列ニ於テ *Bac. histolyticus*, *Bac. Putrificus Verrucosus* ハ既ニ發育シ始ムルモ他列ニハ未ダ發育ヲ認メズ、24時間目ニハ各培地ノ各列共ニ *Bac. Putrificus Verrucosus* ハ幼弱ナル發育ヲ呈スルモ、*Bac. Sphenoides*, *Bac. histolyticus*, *Bac. Tetani* ハ各培地ノ第1列、第2列ニ於テノミ發育ヲ認メ、第3—第4列ニハ固有ノ發育ヲ呈セズ、48時間目ニハ各培地ノ第1列ハ各菌共ニ聚落ノ發育著明ナルモ、第1—第3第4列ハ未ダ一般ニ幼弱ナルころにニテ呈ス、72時間目ニハ各培地ノ第1列ハ各嫌氣性菌共ニ聚落ノ發育最高ニ達スルモ、第2列ニ於テハ未ダ完全ナル發育ヲ呈セザル菌ヲ認メ、第3—第4列ハ各菌共發育極メテ幼弱ニシテ固有ノころにニテ呈セズ。

第 4 表 普通寒天培地ト各代用品培地トノ量ニ依ル偏性嫌氣性菌發育比較

培地ノ種類	菌量(%)	嫌氣性菌ノ種類					Bac. Sphenoides					Bac. Histolyticus					Bac. Putrificus Verrucosus					Bac. Tetani				
		培地ノ量及ニ體積(商サ)		培養時間(時)			6	12	24	48	75	6	12	24	48	72	6	12	24	48	72	6	12	24	48	72
普通寒天培地		1)	40.cc	-	-	+	+	+	+	+	-	±	+	+	+	+	-	±	+	+	+	+	-	±	+	+
		2)	35.cc	-	-	+	+	±	+	+	-	±	+	+	+	+	-	±	+	+	+	-	±	+	+	
		3)	30.cc	-	-	-	±	+	+	+	-	±	+	+	+	+	-	±	+	+	+	-	±	+	+	
		4)	25.cc	-	-	-	-	+	+	+	-	-	±	+	+	+	-	±	+	+	+	-	-	-	±	+
硝子ノ粒	15.cc	1)	95.g 12cm	-	-	+	+	+	+	+	-	+	±	+	+	+	-	±	+	+	+	-	±	+	+	
	13.cc	2)	85.g 10.5cm	-	-	-	+	+	+	+	-	-	±	+	+	+	-	-	±	+	+	-	±	+	+	
	10.cc	3)	75.g 9cm	-	-	-	-	+	+	+	-	-	±	+	+	+	-	-	±	+	+	-	-	-	+	
	7.cc	4)	65.g 7.5cm	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	±	+	+	-	-	-	+	
砂ノ粒	15.cc	1)	110.g 12cm	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	±	+	+	+	-	±	+	+	
	13.cc	2)	95.g 10.5cm	-	-	-	+	+	+	+	-	-	±	+	+	+	-	-	±	+	+	-	±	+	+	
	10.cc	3)	80.g 6cm	-	-	-	-	+	+	+	-	-	±	+	+	+	-	-	±	+	+	-	-	-	+	
	7.cc	4)	65.g 7.5cm	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	±	+	+	-	-	±	+	+	-	-	-	+	
繊維物ノ屑	15.cc	1)	16.g 12cm	-	-	+	+	+	+	+	-	+	±	+	+	+	-	-	±	+	+	-	±	+	+	
	13.cc	2)	13.g 10.5cm	-	-	-	+	+	+	+	-	-	±	+	+	+	-	-	±	+	+	-	±	+	+	
	10.cc	3)	10.g 9cm	-	-	-	-	±	+	+	-	-	±	+	+	+	-	-	±	+	+	-	-	-	+	
	7.cc	4)	7.g 7.5cm	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	±	+	+	-	-	±	+	+	-	-	-	+	

(註) 卅, 卅, +, 土, -ハ第2表ノ註ニ同シ.

以上ノ第4及ビ第5節ノ實驗ニ依リ各培地ニ於テハ何レモ培地ノ量ニ比例シ且ツ試験管内培地體積ノ高サ大ナルニ從ツテ Medium 中ノ酸素ヲ急速ニ消失セシメ、且ツ各偏性嫌氣性菌ノ培養モ短時間内ニ完全ナル發育ヲ呈ス。

偏性嫌氣性菌ノ培養ニ當リテハ周圍 Medium 中ノ酸素ト一定ノ關係ヲ有シ酸素ノ皆無若クハ遙カニ低キ酸素分壓ノ下ニ發育シ得ルヲ以テ成ルベク速カニ酸素ヲ消失セシメ、且ツ短時間内ニ各菌ノ發育最高ニ達セシムルヲ要ス。依ツテ各培地何レモ第1列目ノ量及ビ體積ヲ以テ以下ノ實驗ニ使用スル事トセリ。

第 6 節 普通寒天培地ト各代用品培地トノ偏性嫌氣性菌發育能力比較實驗

第 1 項 實驗材料及ビ實驗方法

敍上ノ實驗ニ依リ諸種培地ハ第1列タル普通寒天培地40 cc ノ斜面ノ硝子粒ぶいよん、砂顆粒ぶいよん、織物屑ぶいよんガ周圍めちうむ中ノ酸素ヲ最モ早く消失セシメ從而短時間内ニ菌聚落ヲ形成セシムル作用アルヲ以テ各々該當ノ培地ヲ以テ比較實驗ニ供シタリ。小試験管内ノ Zeissler 2%葡萄糖血液寒天斜面培地ニハ肝肝ぶいよん 37°C 48時間培養シタル各嫌氣性菌1白金耳宛ヲ塗抹シ組立ノ操作ヲナシ37°Cノ孵卵器ニ收メ偏性嫌氣性菌ガ移植後何時間目頃ヨリ發育シ始メ、何時間目後ニ至リ完全ナル聚落形成ヲナスヤヲ 6, 12, 24, 48, 72時間目第5回ニ亘リ孵卵器ヨリ取出シ、各發育狀態ヲ比較觀察セリ。

第 2 項 實驗成績及ビ小括

第5表ニ示ス如ク何レノ培地ニ於テモ第6時間目ニハ全ク嫌氣性菌ノ發育ヲ認メズ、12時間目ニ於テハ各培地共ニ Bac. Welchii, Bac. Amylobacter, Bac. histolyticus, Bac. Putrificus Verrucosus ハ既ニ發育シ始マルモ未ダ一般ニ其發育極メテ幼弱ニシテ固有ノところにーヲ呈セズ、24時間目ニ至リテハ各培地共殆ンド全部著明ノ發育ヲ呈シ各々固有ノところにーヲ形成ス。然レドモ各菌ノところにーノ發育未ダ充分ナラズ、48—72時間目後ニ至リテハ何レモ發育最高ニ達セリ。

以上ノ實驗成績ヲ比較スレバ各種培地間ニハ別ニ優劣ナク何レモ最短72時間ノ培養ヲ以テ充分其ノ目的ヲ達シ得ルヲ確カメタリ。

第 5 章 實 驗 成 績

第 1 節 各種培地斜面上ニ於ケル偏性嫌氣性菌ノ發育狀態

第 1 項 實驗材料及ビ

實驗方法

本 H.T. 培養法ニヨリ種々ナル培養基上ニ於ケル各種偏性嫌氣性菌ノ發育狀態ヲ比較觀察セントシ實驗ニ供シタル培養基ノ種類並ニ製法ハ次ノ如シ。

1) Zeissler 氏2%葡萄糖血液寒

天斜面

3%寒天培養基 (PH7.2) 1000ccニ葡萄糖20gヲ混和シ6分試験管ニ10cc宛分注シ100°C20分間宛3回滅菌シテ保存シ、使用時ニ上記保存セル2%葡萄糖寒天ヲ加温溶解シ約45°Cニ保チ10%ノ割合ニ家兎脱纖維血液ヲ無菌的ニ加ヘ斜面トナシ37°C孵卵器ニ收メ1晝夜保存シテ無菌ナルカラ確メタル後使用セリ。

2) 普通血液寒天斜面

3%寒天培養基 (PH7.2)ヲ6分試験管ニ約10cc分注滅菌シ45°Cニ保チ10%ノ割合ニ家兎脱纖維血液ヲ加ヘ斜面トナシ37°C孵卵器内ニ入レ1夜保存シ後使用セリ。

3) 1%葡萄糖加肝臟越幾斯

寒天斜面

牛肝臟500gヲ肉挽ニテ細挫シこるベムニ入レ水1000ccヲ加ヘ、こつほ釜ニテ約2時間加熱浸出センメ、ふらんね

第 5 表 普通寒天斜面培養地ト代用品培養地トノ偏性嫌氣性菌發育比較

嫌氣性菌ノ種類	培 養 基 ノ 種 類					培養時間(時)				
1) Bac. Welchii	+	+	+	+	+	6	12	24	48	72
2) Bac. Amylobacter	+	+	+	+	+	6	12	24	48	72
3) Bac. Sphenoides	+	+	+	+	+	6	12	24	48	72
4) Bac. Novysher	+	+	+	+	+	6	12	24	48	72
5) Bac. Parauschbrand	+	+	+	+	+	6	12	24	48	72
6) Bac. Rauschbrand	+	+	+	+	+	6	12	24	48	72
7) Bac. Hisioliticus	+	+	+	+	+	6	12	24	48	72
8) Bac. Putrificus Verrucosus	+	+	+	+	+	6	12	24	48	72
9) Bac. Putrificus Tennis	+	+	+	+	+	6	12	24	48	72
10) Bac. Tetanus	+	+	+	+	+	6	12	24	48	72

る、濾紙等ニテ濾過シ其ノ滲出液ニ就キ下記ノ方法ニテ製ス。

即チ肝臟滲出液 1000cc
寒 天 30g

肉 え き す 10g

食 鹽 2.5g

ノ割合ニ混和加熱溶解セシメ後50°Cニ保チ卵白2個分ヲ入レ Autoklav ニテ120°C30分間充分凝固セシメふらんねるニテ濾過シ透明ナラシメ PH7.2ニ修正シ、葡萄糖ヲ1%ノ割合ニ入レ6分試験管ニ約10cc宛分注シ100°C20分3日間滅菌シ斜面トナシ使用セリ。

4) 普通寒天培地斜面

3%寒天 (PH7.2) 培地斜面ナリ。

5) 2%葡萄糖寒天斜面

Zeissler 氏葡萄糖血液寒天ノ基礎培地ニシテ血液ヲ加ヘザルモノ

以上5種類ノ培養基ヲ實驗ニ使用セリ

實 驗 方 法

上記5種類培地斜面ニ各偏性嫌氣性菌ハ肝臓いよん37°C 48時間培養菌、各通性嫌氣性菌ハ普通寒天培地 (Staphylococcus albus, Colibacillus), 或ハ1%葡萄糖加肝臓越幾斯寒天培地斜面 (Bac. Acidophylus) ノ37°C18—24時間培養菌ヲ各々1白金耳宛丁寧ニ塗抹シ、本 H. T. 培養法ニヨリ37°C孵卵器内ニ收メ72時間培養シ各培養基ニ於ケル偏性嫌氣性菌ノ聚落發育狀態ヲ比較觀察セリ

第 2 項 實驗成績及小括

第 6 表 各種培地ニ於ケル72時間培養嫌氣性菌ノ發育狀態

偏性菌ノ通別	培養基ノ種類	(1) Zeissler 斜面	(2) 血液斜面	(3) 斯 1 肝寒 % 臟天 糖越斜 加幾面	(4) 普天 通斜 寒面	(5) 2 加斜 % 寒 糖天面
	嫌氣性菌ノ種類					
偏性嫌氣性菌	1) Bac. Welchii	++	++	++	++	++
	2) Bac. Amylobacter	++	++	++	++	++
	3) Bac. Sphenoides	++	++	++	++	++
	4) Bac. Novyscher	++	++	++	++	+
	5) Bac. Pararauschbrand	++	++	++	++	±
	6) Bac. Rauschbrand	++	++	+	+	+
	7) Bac. Histolyticus	++	++	++	++	++
	8) Bac. Putrificus Verrucosus	++	++	++	++	++
	9) Bac. Purificus Tenuis	++	++	++	++	+
	10) Bac. Tetanus	++	++	++	++	+
通嫌氣性菌	1) Staphylococcus Albus	++	++	++	++	++
	2) Colibacillus	++	++	++	++	++
	3) Bac. Acidophilus	++	++	++	+	++

(註) 卅, 卅, +, ±ハ第2表ノ註ニ同ジ。

第6表ニ示スガ如ク各種培養基ニ於ケル72時間培養ノ成績ヲ比較スルニ各偏性及ビ通性嫌氣性菌ハ、1) *Zeissler* 氏2%葡萄糖血液寒天斜面ニ於テ最モヨク發育シ次ギハ、2) 血液寒天斜面、3) 1%葡萄糖加肝臟越幾斯寒天斜面、4) 普通寒天斜面、5) 2%葡萄糖寒天斜面ノ順ニ發育成績ヲ示ス。而シテ上記ノ培養基中普通寒天斜面、及ビ1%葡萄糖加肝臟越幾斯寒天斜面ニモ比較的良ク發育シ得ルモ、嫌氣性菌ノ聚落ハ菲薄、分枝葉狀、扁平、根毛狀ナルモノ多ク、且ツ菌ノ溶血反應及ビ血液培地ノ變化ガ極メテ重要ナル標準トナルヲ以テ診斷未確定ノ細菌ノ分離培養ヲ行フニハ適當コアラズト認ム。

第2節 *Zeissler* 氏2%葡萄糖血液寒天斜面上ニ於ケル 各種嫌氣性菌ノ發育時間

第1項 實驗方法

前節實驗ニ依リ各種培養基中 *Zeissler* 氏培養斜面上ニ於テ各偏性嫌氣性菌ガ最モヨク發育シ得ルヲ認メ、該 *Zeissler* 氏培地斜面ニ培養セル嫌氣性菌ガ何時間目頃ヨリ發育シ始メ、何時間目後ニ於テ完全ナル發育ヲ呈スルヤ。可及的短時間内ニ於テ完全ナル最高發育ヲナス時間ヲ確定スルハ極メテ必要ト思惟シ第7表ノ如キ偏性嫌氣性菌10株ヲ以テ本 *H. T.* 培養法ニヨリ培養シ。培養後6時間目、12時間目、18時間目、24時間目、48時間目、72時間目ノ6回ニ亘リテ孵卵器内ヨリ取り出シ其發育程度ヲ觀察セリ。

第2項 實驗成績

第7表 *Zeissler* 氏培地斜面上ニ於ケル偏性嫌氣性菌ノ發育時間

嫌氣性菌ノ種類	培養時間(時)	6	12	18	24	48	72
1) <i>Bac. Welchli</i>		—	±	+	卅	卅	卅
2) <i>Bac. Amylobacter</i>		—	+	+	卅	卅	卅
3) <i>Bac. Sphenoides</i>		—	—	±	+	卅	卅
4) <i>Bac. Novyscher</i>		—	—	±	+	卅	卅
5) <i>Bac. Pararauschbrand</i>		—	—	+	+	卅	卅
6) <i>Bac. Rauschbrand</i>		—	—	±	+	卅	卅
7) <i>Bac. Histolyticus</i>		—	±	+	卅	卅	卅
8) <i>Bac. Putrificus Verrucosus</i>		—	±	+	卅	卅	卅
9) <i>Bac. Putrificus Tenuis</i>		—	—	+	+	卅	卅
10) <i>Bac. Tetanus</i>		—	—	±	+	卅	卅

(註) 卅, 卅, +, ±, —ハ第2表ノ註ニ同ジ

其ノ成績ハ第7表ノ如ク培養後6時間目ニハ各菌共發育ヲ認メズ、12時間目後ニハ *Bac. Amylobacter* ガ固有ノころにーヲ形成スルモ未ダ發育極メテ幼弱ナリ。18—24時間目ニハ各菌共ニ全部發育極メテ微弱ナガラ固有ノころにーヲ形成シ、48時間目ニ至リテハ各菌共全部著明ナル發育ヲ呈シ、然レドモ未ダころにーノ發育完全ナラズ、72時間目ニ於テハ各菌ノ發育最極度ニ達セリ。以上ノ實驗成績ニヨリ本 H. T. 培養法ニ於テハ一般ニ培養後最短72時間ヲ以テ各菌共充分其ノ目的ヲ達シ得ルヲ確カメ得タリ。

第 3 節 各種嫌氣性培養法ニ於ケル酸素消費能力比較實驗

第 1 項 實驗材料及ビ實驗方法

培養法ハ龔ニ述ベタル (A) H. T. 培養法 (B) *Mark Shoetensack*⁽⁷⁸⁾ 氏培養法 (C) 黃磷燃燒法⁽⁶⁸⁾⁽⁶⁹⁾⁽⁷⁰⁾ (D) すみす⁽⁴⁰⁾⁽⁴¹⁾ 氏水素置換法ニヨル事トシ、酸素試液ハ (a) *Rijmsdijk*⁽⁷⁴⁾⁽⁷⁵⁾ 氏標示藥 (b) *Fildes*⁽⁷⁶⁾ u. *Mc Intosh* 氏標示藥 (上記使用方法ヲ参照) ヲ使用セリ。即チ各種培養法ヲ所定ノ方法ニヨリ行ヒ、同時ニ (A) *Rijmsdijk* 氏標示藥ヲ浸潤セシメタル 綿紗片及ビ (B) *Fildes* u. *McIntosh* 氏標示藥ヲ入レタル小試験管ヲ各供試培養法ノ培養槽及ビ試験管内ニ適宜入レ 37°C ノ孵卵器内ニ收メ、培養後、2, 6, 12, 18, 24, 36, 48, 72時等ノ時間的ニ取り出シめちれん青標示藥ノ還元脱色度ヲ比較觀察セリ。

第 2 項 實驗成績及ビ小括

第 8 表 各種培養法ニ於ケル酸素消費能力比較實驗

嫌氣性培養法ノ種類 \ 培養時間(時)	2	6	12	18	24	36	48	72
A) H. T. 培養法	++	<++	++	+	+	—	—	—
B) <i>Mark, Shoetensack</i> 氏培養法	++	++	++	+	+	—	—	—
C) 黃 磷 燃 燒 法	—	—	+	+	+	+	+	+
D) 水 素 瓦 斯 置 換 法	++	++	++	+	+	+	+	+

(註) ++, <++, ++, +, —ハ第1表ノ脱色度欄ノ註ニ同ジ

第8表ニ見ル如ク (A) H. T. 培養法、(B) *Mark Shoetensack* 氏培養法ハ培養後めちれん青還元脱色ノ速度緩徐ニシテ 6—12時間後ニ於テ脱色シ始マリ 18時間目ニハ大部分脱色シ 24—36時間後ニハ完全脱色セルヲ見ル。(C) 黃磷燃燒法ハ培養後 1時間乃至2時間目ニシテ既ニ完全ナル還元脱色ヲナセドモ空氣ノ侵入スルカ、又其他ノ不明ナル原因ニヨリ數時間後再び多少ノ青色ヲ帶ビ來ル。(D) 水素瓦斯置換法ハ 6—12時間目頃ヨリ還元脱色シ始マルモ 48

—72時間後ニモ完全ナル還元脱色ヲ呈セズ、之レハ初メ培養操作中培養槽内壓7mmニシテ完全水素瓦斯置換ヲ行ハザルニ依ルナラント思惟ス。

之ニ依ツテ觀ルニ水素瓦斯置換法ハめづれん青ノ還元脱色不充分ニシテ、黃磷燃燒法ハ2時間目ニ既ニ還元脱色スルモ硝子槽蓋接續部位ヨリ再ビ空氣ノ侵入スル憂ヒアリ、然レドモ本 H. T. 培養法ハ通性嫌氣性菌ノ生物學的性状ヲ應用スルニ依リ還元脱色セラレ共ノ始マリガ稍遅キモ一定時間經過後ニハ酸素消費度ハ漸次増加スル事ト信ズ。

第4節 各種培養法ノ發育比較實驗

第1項 實驗材料及ビ實驗方法

比較實驗ニ供試シタル嫌氣性培養法ハ第3節ニ採用セル (A) H. T. 嫌氣性培養法, (B) *Mark Shoetensack* 法, (C) 黃磷燃燒法, (D) すみす水素置換法 4種ニシテ何レモ所定ノ使用法ニヨリ培養操作ヲナス、供試培地ハ上述ノ如キ (A) *Zeissler* 氏2%葡萄糖血液寒天培地, (B) 普通血液寒天培地 (C) 1%葡萄糖加肝臟越幾斯寒天培地, (D) 普通寒天培地, (E) 2%葡萄糖寒天培地ヲ既述ノ製法ニヨリ調製シ各々斜面及ビ平板トシテ實驗ニ供シタリ。

即チ各種培養基ニ肝ぶいよん37°C, 48時間培養セル偏性嫌氣性菌ヲ1白金耳宛塗抹シ培養操作ヲナシテ37°C孵卵器内ニ收メ各々72時間培養後取り出シ各培地ニ於ケル菌ノ發育狀態ヲ比較觀察セリ。

第2項 實驗成績及ビ小括

第9表ニ示ス如ク何レノ培養法ニ於テモ菌ノ發育狀態ハ (1) *Zeissler* 氏2%葡萄糖血液寒天培地ニ最モ良ク發育シ次ギハ (2) 普通血液寒天培地, (3) 1%葡萄糖加肝臟越幾斯寒天, (4) 普通寒天, (5) 葡萄糖加寒天培地ノ順ナリ。

而シテ本 H. T. 培養法ニ於ケル菌ノ發育狀態ハ爾他ノ培養法ニ比シ何等ノ遜色ヲ認メズシテ却ツテ *Mark Shoetensack* 氏法, 水素瓦斯置換法トニ比シ一般ニ良好ナル發育狀態ヲ呈シ、黃磷燃燒法ニ對シテモ何等ノ優劣ヲ認メザリキ。

第5節 *Zeissler* 氏2%葡萄糖血液寒天培地上ニ於ケル

各種培養法ノ菌發育ニ要スル時間ノ比較

第1項 實驗方法

前節ノ實驗ニ於テ、各種培養法ハ諸種ノ培養基中特ニ *Zeissler* 氏培養基ガ最モヨク發育ヲ呈スルヲ認メタリ。然ラバ *Zeissler* 氏培地ニ培養セル各嫌氣性菌ハ何時間目頃ヨリ發育シ始め、何時間目ニ於テ完全ナル發育ヲ呈スルヤヲ各種培養法ニ就イテ所定ノ方法ニヨリ培養

第 9 表 各種培地ニ於ケル各種嫌氣性培養法ノ菌發育狀態比較 (各々72時間培養菌)

培養基ノ種類 嫌氣性菌ノ種類	(1) Zeissler 氏培地				(2) 血液寒天培地				(3) 1%糖加肝臟越 幾斯寒天培地				(4) 普通寒天培地				(5) 2%糖加寒天培地			
培養法ノ種類	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
1) Bac. Welchii	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
2) Bac. Amylobacter	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
3) Bac. Sphenoides	++	++	++	++	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
4) Bac. Novyischer	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
5) Bac. Pararautschbrand	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
6) Bac. Rauschbrand	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++
7) Bac. Histolyticus	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
8) Bac. Putrificus, Vernucosus	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
9) Bac. Putrificus Tenuis	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
10) Bac. Tetanus	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++

(註) (A) H. T. 培養法 (B) Mark, Shoelensack 法 (C) 黄燐燃燒法 (D) 水素瓦斯置換法ヲ示ス.

++, ++, +, ±, -ハ第2表ノ註ニ同ジ.

シ, 6時間目, 12時間目, 18時間目, 24時間目, 48時間目, 72時間目等ノ時間的ニ37°C孵卵器内ヨリ取り出シ各培養法ニ於ケル菌ノ發育狀態ヲ比較觀察セリ.

第 2 項 實驗成績及ビ小括

第10表ニ示ス如ク (A) H. T. 培養法ニ於ケル菌ハ培養後6時間目ニハ何レノ菌モ發育セズ

第 10 表 Zeisler 氏培地ニ於ケル各嫌氣性培養法ノ菌發育時間比較

培養法ノ種類 嫌氣性菌ノ種類	(A) H. T. 培養法					(B) Mark, Shoeten- sack 氏培養法					(C) 黃磷 燃 燒 法					(D) 水素瓦斯置換法				
	培養時間(時)	6	12	18	24	48	72	6	12	18	24	48	72	6	12	18	24	48	72	
1) Bac. Welchii	-	±	+	±	±	±	±	-	-	+	+	±	±	±	+	+	±	±	±	
2) Bac. Amylobacter	-	+	+	±	±	±	±	-	+	+	±	±	±	-	+	+	±	±	±	
3) Bac. Sphenoides	-	-	±	+	±	±	±	-	-	+	+	±	±	-	±	+	+	±	±	
4) Bac. Novyscher	-	-	±	+	±	±	±	-	-	+	+	±	±	-	-	+	+	±	±	
5) Bac. Pararautschi	-	-	+	+	±	±	±	-	-	-	±	+	±	-	±	+	+	±	±	
6) Bac. Rauschbrand	-	-	±	+	±	±	±	-	-	+	+	±	±	-	±	+	+	±	±	
7) Bac. Histolyticus	-	±	+	±	±	±	±	-	+	+	±	±	±	-	±	+	±	±	±	
8) Bac. Putrificus, Verrucosus	-	±	+	+	±	±	±	-	-	±	+	±	±	-	±	-	-	+	+	
9) Bac. Putrificus Tenuis	-	-	+	+	±	±	±	-	-	+	±	±	±	-	-	+	+	+	±	
10) Bac. Tetanus	-	-	±	+	±	±	±	-	-	+	±	±	±	-	-	±	+	±	±	

(註) ±, +, -, 一ハ第2表ノ註ニ同ジ

12時間目ニハBac. Amylobacter ノミころに一フ形成シ始マリ, 18時間後ニ至リテハ各菌共

微弱ナガラ固有ノ聚落ヲ形成シ、48時間後ニハ全部著明ナル發育ヲ呈シ、72時間後ニ至リテハ各菌ハ充分ナル固有ノころにーヲ形成ス、即チ發育最高ニ達セリ。

(B) *Mark. Shoetensack* 氏法、(D) 水素瓦斯置換法ニ於ケル各嫌氣性菌ハ培養後、12乃至18時間目ニ至リ多數ノ菌ハ發育シ始ムルモ48—72時間後ニ至リテモ菌ノ發育最高ニ達セザル菌株多數ヲ認メタリ。

(C) 黃磷燃燒法ニ於ケル菌ハ培養後6時間目ニハ各菌發育セズ、12時間目ニ至リテ *Bac. Welchii*, *Bac. Amylobacter* ノミハ既ニ微弱ナルころにーヲ形成シ、18時間目ニハ各菌共微弱ナル固有ノころにーヲ發生シ、48時間目ニ至リテハ既ニ各菌株ノ發育最高ニ達セリ。

以上4種ノ嫌氣性培養法ニ於ケル各菌ノ發育程度及ビ時間ノ長短ヲ比較觀察スルニ、H. T. 培養法ト黃磷燃燒法ニ於テ各菌ノ發育時間最短ニシテ完全ナル發育ヲ呈スルヲ認メタリ。

第 6 節 H. T. 培養法ニモル嫌氣性菌ノ聚落

所見及ビ形態學的性狀

本 H. T. 斜面培養法ニヨリ、肝ぶいよん37°C、48時間培養ノ偏性嫌氣性菌ヲ *Zeissler* 氏2%葡萄糖血液寒天斜面培地ニ移植シ、37°C、72時間培養ノ聚落所見及ビ形態學的性狀ヲ檢索シー括シテ表示スレバ次ノ如シ。

第 11 表 H. T. 斜面培養法ニヨル菌ノ聚落所見及ビ形態學的性狀

菌 株	形 態 (μ)	連 鎖	ぐらむ染色	芳胞有無	Z 氏斜面ニ於ケル聚落所見	好氣性培養		
						普通寒天	普ふいよん通ん	Z 氏斜面
<i>Bac. Welchii</i> (<i>Zeissler</i> 株)	肥厚 3-7× 大桿菌 1-1,5	—	+	—	正圓形、不透明ニシテ鉤狀隆起、分葉狀扁平光澤アリ、淡黃褐色溶血暈著明、培地汚穢褐色	—	—	—
<i>Bac. Amylobacter</i> (<i>Zeissler</i> 株)	中等 4-8× 大桿菌 0,8-1,0	—	+	+	圓形、又類圓形、扁平隆起灰白色光澤アリ溶血暈ナシ培地ハ不透明赤褐色	—	±	+
<i>Bac. Sphenoides</i> (傳 研 株)	中等 3-7× 大桿菌 0,5-0,8	+	+	—	圓形、類圓形、鉤狀又ハ扁平黃白色ヲ呈シ光澤アリ。不透明粘稠性ナリ。溶血經變アリ、培地不變	—	—	—
<i>Novyscher Bacillus</i> (上 海 株)	稍菌 4-8× 大ナル桿 0,8-1,0	+	+	—	圓形、類圓形、分葉狀ニシテ山形饅頭狀表面凸凹不平灰白色稍透明ナリ、周圍ヨリ突起ヲ出ス。溶血(+)培地不變ナリ。	—	—	—

菌 株	形 態 (μ)	連 鎖	ぐらむ染色	芽胞有無	Z氏斜面ニ於ケル聚落所見	好氣性培養		
						普通寒天	普ふいよん通ん	Z氏斜面
Pararauschbrand Bacillus (Seibeldet株)	細長桿菌 3-10× 0,5-0,8	+	±	-	菲薄, 類圓形又ハ不正形ヲ呈シ, 纖細ナル分葉狀又ハ地圖狀ナリ. 灰白色溶血量(+)培地赤褐色不透明	-	-	-
Rauschbrand Bacillus (Bern 株)	中等大桿菌 1,5-5× 0,6-0,8	-	+	-	菲薄扁平, 圓形, 釘狀 ^レ 葉狀不正形, 灰色光澤アリ, 溶血(+)培地不變色ナリ.	-	-	-
Bac. Histolyticus (海軍々醫學校株)	細小桿菌 2-6× 0,4-0,8	-	+	+	圓形, 類圓形ノ微細菲薄, 無色灰色透明光澤アリ, 溶血量(+)培地不變色ナリ.	-	-	-
Bac. Putrificus Verrucosus (Zeissler 株)	纖細桿菌 2-6× 0,5-0,8	+	+	-	黃白色疣狀培地ニ嵌入シ表面光澤ニシテ塊狀起伏不整突起ヲ放出シ 溶血量(+)培地赤血色不變ナリ.	-	-	-
Bac. Putrificus Tenuis (傳 研 株)	纖細桿菌 3-6× 0,3	±	+	+	菲薄扁平ノ圓形, 類圓形灰白色ナリ 集落, 融合スルコト多シ, 溶血(+)培地不變ナリ.	-	-	-
Bac. Tetani (Zeissler 株)	纖細中等桿 3-7× 0,5-0,8	±	+	+	甚菲薄纖細ナル小點又ハ中心顆粒性 周邊ヨリ放線狀ニ菌枝ヲ出シ錯綜シテ網眼狀發育ヲ呈スルコトアリ, 溶血(+)培地不變色	-	-	-

以上ノ如ク偏性嫌氣性菌ヲ本 H. T. 培養法ニ於テ72時間培養セル菌ノ聚落所見, 普通染色法, ぐらむ氏染色法, 芽胞染色法ヲ行ヒ以テ集落性狀, ぐらむ染色性, 菌ノ配列, 形態且ツ芽胞形成狀態ヲ檢シ他ノ嫌氣性培養法ニ於ケル發育菌ト比較シタルニ何レノ菌モ菌集落所見及ビ菌形態正常ニシテ單個又ハ2個並立シ, 稀レニ連鎖ヲ認メルモ, 長キ連鎖及ビ膨大型ヲ認メルモノ殆ンドナシ. ぐらむ染色陽性ニシテ少數ノ陰性菌, 混在セルヲ認メタル.

芽胞形成ハ本 H. T. 培養法ニ於テ72時間培養菌ニハ菌株ニヨリ形成スルモノト, セザルモノトアリ, 一般ニ芽胞形成ハ液體培養ヨリ固形培養ニ於テハ遅キモノノ如シ.

第7節 H. T. 培養法ニヨル放線狀菌ノ培養

第1項 實驗材料及ビ實驗方法

京城帝大醫學部松井外科教室入院患者ノ頸部放線狀菌病者病竈ヨリ昭和16年3月6日, 3月10日, 5月12日ノ3回ニ亙リ濃厚灰白色ニシテ微赤色血液性ヲ含ム膿汁ノ分譲ヲ受ケ, 實驗室ニ持來リ, 數個ノ稍々帽斜頭大ノ灰白色ナルどるーゼ (Druse) ヲ集メ, 生理的食鹽水

ニテ數回洗滌シおぶえくとぐらすニ載セでつきぐらすヲ以テ蔽ヒ弱廊大ニテ檢シ、中央ハ菌絲塊狀ヲナシ周圍ハ棍棒狀體ノ配列ヲ呈スルどるーゼタルヲ檢シ更ニコノどるーゼヲ載物硝子上ニ載セ滅菌載物硝子ヲ以テ加壓破碎シぐらむ染色上無數ノ大小桿菌ニシテ波狀彎曲ノ眞性單足性分枝ヲ呈スルぐらむ陽性タル放線狀菌ヲ確カメ、斯ル材料ヲ無菌的ニ採取シ Zeissler 氏 2% 葡萄糖血液寒天斜面ニ塗抹シ、本 H. T. 嫌氣性培養法ヲ所定ノ方法ニヨリ培養シ 37°C ノ孵卵器ニ入レ發育狀態ヲ觀察セリ。

第 2 項 實驗成績及ビ小括

前述ノ Zeissler 氏斜面培地ニ塗抹シ H. T. 培養法ヲ以テ培養シタルニ 4.5 日目ニシテ斜面ニ肉眼的ニ漸ク認め得ル灰白色ノ點狀集落ノ多數發生シタルヲ見ル。之ノ時尚ホ少數ノ葡萄狀球菌集落ヲ認メル。9—10 日目ニ至レバ集落ハ帽斜頭大ニ達ス。此集落ハ初メ肉眼ヲ以テ漸ク認め得ル程度ノ時ハ珠狀ノ灰白色點狀ヲナセドモ 9—10 日目ニ至リ帽斜頭大ニナレバ珠狀ヲナサズシテ表面凹凸不規則小塊ヲナシテ灰白色ナリ。白金耳ヲ以テ觸ルルモ直チニ破壊セズシテ軟骨樣硬度ヲ有ス、集落ハ培養基内ニ極メテ固ク附着ス。本菌株ハ Zeissler 氏斜面及普通寒天斜面ニ於テ好氣的培養ニ發育セズ、尙ホ精細ナル研究ハ現今實驗中ナルヲ以テ後日發表ノ豫定ナリ。

唯 H. T. 培養法ニヨリ分離培養可能ナリシヲ之ニ附言スルニ止ム。

第 6 章 總 括

通性嫌氣性菌ノ生物學的性狀ヲ應用シ、偏性嫌氣性菌培養ヲ企テ、其等ノ實驗成績ニ就イテ之ヲ總括スレバ次ノ如シ。

1) 前述ノ如キ内徑 3cm, 長サ 21cm, 内容積 130 cc ノ大試験管内ニ普通寒天培地 40ccヲ定量分注斜面トナシ、靈菌, 大腸菌, 綠膿菌, 枯草菌, 馬鈴薯菌, 變形菌, 納豆菌等ノ各通性嫌氣性菌ヲ 3 白金耳宛漏レナク均等ニ塗り、口徑 2cm 長サ 17.5 cm, 内容積 40 cc ノ小試験管内ニハ Zeissler 氏葡萄糖血液寒天培地 10 ccヲ定量分注斜面トナシ、之ノ小試験管ヲ聯合固定シ固形ばらふいんニテ封シ外氣ト遮斷セシメ、大小試験管内ノ空氣總量 $(130 - 40) + (40 - 10) = 120$ cc 内ノ $\frac{1}{2}$ 酸素分量ヲ吸收消費セシムル能力ヲ比較實驗シタリ。之ノ時瓦斯めちうむ中ノ酸素ニ對スル還元作用ノ標示藥トシテめちれん青試液ノ好適ナルコトハ Rijnsdijk⁽⁷⁴⁾⁽⁷⁵⁾ 氏 Fildes⁽⁷⁶⁾ u. Mc. Intosh 氏ニヨリテ認めラレ、ソノ後廣ク利用セラルル所ナリ、依ツテ余モ之ノめちれん青ノ標示藥ヲ試験管内ニ入レめちうむ中ノ酸素ヲ何レノ菌ガ早ク完全ニ吸收消失セシムルカラ比較實驗シタルニ、前記各通性嫌氣性菌ノ中靈菌・大腸菌ガ最モ

早く脱色セシメ、即チ24—36時間培養ニ於テ既ニ完全ナル還元脱色ヲ呈スルモ、綠膿菌、枯草菌、變形菌、納豆菌、馬鈴薯菌ハ48—72時間後ニ初メテ完全ニ還元脱色セシメタリ、且ツ各菌ノ發育狀態ハ靈菌、大腸菌ハ培養後4—5時間目ヨリ發育シ始メ18—24時間目ニ至リテハ發育極點ニ達シ、綠膿菌、枯草菌、變形菌ハ培養後5—6時間目ニ發育シ始メ18—24時間後ニハ發育最高ニ達シ馬鈴薯菌、納豆菌ハ培養後8時間目ヨリ發育シ始マリ24—36時間目後ニシテ發育完成セラルルヲ認メタリ。

依ツテ各通性嫌氣性菌中、靈菌、大腸菌ガ最も早く發育シ、且ツ一定量ノ瓦斯めちうむ中ノ酸素ヲ最も早く吸收消失セシメルコトヲ確認シタリ。

(2) 前記ノ靈菌、大腸菌、綠膿菌、枯草菌、馬鈴薯菌、變形菌、納豆菌、等各通性嫌氣性菌3—4白金耳宛ヲ本 H. T. 培養法ノ大試験管内40ccノ寒天培地斜面ニ遺漏ナク均等ニ塗抹シ、小試験管内10cc、Zeissler 氏培地斜面ニハ前述ノ肝ぶいよん48時間培養保存ノ各偏性嫌氣性菌ヲ1白金耳宛塗り37°Cノ孵卵器内ニ收メテ培養ニ附シ各通性嫌氣性菌ノ偏性嫌氣性菌發育能力ヲ比較實驗シタルニ、何レノ通性嫌氣性菌モ各偏性嫌氣性菌ヲ發育セシムルモ、特ニ靈菌、大腸菌ヲ應用セル培養ニ於テ最も優越ナル發育ヲ示スモノシテ、之ノ場合ニハ培養後12—18時間目ニ於テ既ニ各嫌氣性菌ハ發育シ始メ48—72時間目後ニハ各菌共固有ころにーノ發育最高ニ達セリ、綠膿菌、枯草菌ヲ應用セル培養ニ於テハソノ成績靈菌、大腸菌ヨリ多少緩徐ニシテ劣レルモ一般ニ各偏性菌ハ培養後18—24時間目ニ至リ發育シ始マリ48—72時間後ニ至ルモ未ダ菌聚落ノ發育最高ニ達セザル菌種ヲ認メ、次ギニ馬鈴薯菌、變形菌、納豆菌ノ場合ハ培養後24時間ニ至ルモ未ダ微弱ナルころにーヲモ發育セザル菌アリテ72時間後ニ至リテモ菌ころにーノ發育完成セザルモノ多數ヲ認メタリ。

即チ前項ニ述ベタルめちれん青試薬ニヨル酸素吸收試験ト一致シ、靈菌、大腸菌ヲ應用セル H. T. 培養法ガ各偏性嫌氣性菌ヲ最も早く發育シ始メ48—72時間ノ短時間内ニ完全ナル最高ノ發育狀態ヲ呈スルヲ知リタリ、依ツテ本 H. T. 嫌氣性培養法ニハ靈菌、大腸菌ヲ應用スル事ガ最も適當ナルヲ認メタリ。

(3) 上述ノ如ク普通寒天斜面培地ト其ノ代用品培地タル硝子粒ぶいよん、砂顆粒ぶいよん、織物屑ぶいよん等ヲ階段の量ヲ以テ、本 H. T. 培養方法ニ依リ大小試験管内ノ空氣總量中ノ酸素ヲ吸收消失セシムル能力ヲ比較培養實驗シタルニ、普通寒天培養ハ斜面々積ノ廣キ程、其ノ代用品培地ハ40cc斜面ト、ソノ代用品培地タル硝子粒95g(高サ12cm)、砂顆粒110g(高サ12cm)、織物屑16g(高サ12cm)ニ對スル各々1.0cc, 1mg, 靈菌ぶいよん浮游液15cc添加培地ニ於テ各比適シ各々24時間目ニ大部分めちれん青酸素標示薬ヲ還元脱色セシメ36—48時間後ニ至リ完全ニ還元脱色セルコトヲ知リ得タリ、次イデ普通寒天培地35cc斜面、ソノ代

用品培地ノ硝子粒85g (高サ10.5cm), 砂顆粒 95g (高サ10.5 cm), 織物屑13 g (高サ10.5cm) =各々1.0cc, 1mg靈菌ぶいよん浮游液13cc添加培地ニ於テハ還元脱色ノ速度ハ前者ニ比シ稍々劣レルモ培養後48—72時間後ニハ各培地完全ニ還元脱色セラレタリ, 次ギノ量即チ, 寒天培地30cc—25ccノ斜面, 硝子粒75g (高サ9cm) —65g (高サ7.5cm), 砂顆粒80 g (高サ9cm) —65g (高サ7.5cm), 織物屑10g (高サ9cm) —7g (高サ7.5cm) ノ1cc, 1mgノ靈菌ぶいよん液10cc—7cc添加培地ニ於テモ尙ホ還元脱色可能ニシテ72時間後ニハ大部分還元脱色ヲ示セリ. 次イデ以上ニ用ヒタル各組合セノ培地ニ偏性嫌氣性菌ヲ移植培養シタル所, 豫想ヲ裏切ル事ナク第1列ノ試験管ガ何レモ最モ早く且ツ典型的ナル菌聚落ヲ發生シタリ.

(4) 上述ノ如ク各培地ニ於ケル量ノ階段の實驗ニ依リ普通寒天培地40cc斜面, 硝子粒95g (高サ12cm), 砂顆粒110 g (高サ12 cm), 織物屑16g (高サ12cm) ノ1cc, 1mg, 靈菌ぶいよん浮游液15cc添加培地ガ最モ適當ナルヲ知り得タレバ, 之等各培地ヲ以ツテ各種ノ偏性嫌氣性菌ノ發育狀態ヲ比較培養シタルニ何レノ培地モ良好ナル發育ヲ示シ殆ンド同一ノ發育成績ヲ呈セリ, 即チ *Bac. Welchii*, *Bac. Amylobacter*, *Bac. Histolyticus*, *Bac. Putrificus Verrucosus* 等ハ培養後1時間ニシテ既ニ發育シ始マリ24時間ニテハ各菌共發育旺盛トナリ, 各々固有ノところに一ヲ形成シ培養後48—72時間後ニハ各菌ノ發育最高ニ達シ固有ノところに發育完全ナルヲ示セリ.

依ツテ普通寒天培地40 cc斜面ニ靈菌3—4白金耳塗抹ト及ビ其ノ代用品タル硝子粒95 g (高サ12cm), 砂110g (高サ12cm), 織物屑16 g (高サ12cm), 1cc, 1mgノ靈菌ぶいよん液15 cc添加培地ヲ應用セル本 H. T. 培養法ノ48—72時間培養ニ於テ各偏性嫌氣性菌ノ培養ハ充分ニ其ノ目的ヲ達シ得ル一新培養法ナリト信ズ.

(5) 前述ノ普通寒天培地40cc斜面ニ靈菌3—4白金耳塗抹スルモノ或ハソノ代用品培地タル硝子粒95g, 砂110g, 織物屑16gヲ1cc, 1mgノ靈菌ぶいよん液15cc添加培地ヲ應用シ本 H. T. 培養法ニ於テ, 各種培養基即チ(1) *Zeissler* 氏葡萄糖血液寒天ノ斜面, (2) 普通血液寒天斜面, (3) 1%葡萄糖加肝臟越幾斯寒天斜面 (4) 普通寒天斜面, (5) 2%葡萄糖寒天斜面等ノ培地ニ肝ぶいよんノ37°C, 48時間培養保存セル各種偏性嫌氣性菌1白金耳宛ヲ塗リ培養シ37°C, 孵卵器ニ入レ72時間目後ニ各々取出シ各培養基ニ於ケル發育狀態ヲ比較觀察セルニ(1) *Zeissler* 氏培地斜面ニ於テ各菌最モ良ク發育シ, 次ギハ(2) 普通血液寒天斜面, (3) 1%葡萄糖加肝臟越幾斯寒天斜面, (4) 普通寒天斜面, (5) 2%葡萄糖寒天斜面ノ順ニ發育成績ヲ示シタリ.

(6) (A) H. T 培養法ト (B) *Mark. Shoetensack* 氏培養法 (C) 黃磷燃燒法 (D) 水素瓦斯置換法ニ於ケル瓦斯めちうむ中ノ酸素ニ對スルめちれん青標示液ノ還元脱色スル作用ヲ比

較實驗セシニ黃磷燃燒法、水素瓦斯置換法ハ培養後數時間ニシテ完全ナル還元脫色セラルルモ何等カノ原因ニ依リ再び空氣ノ侵入スル憂ヒナキニアラズ、又 *Mark, Shoetensack* 氏法ハ還元脫色一般ニ遅ク且ツ一定度以上ハ還元作用ヲ呈セザルモ、本 *H. T* 培養法ニ於ケル脫色作用ハ一般ニ脱キモ通性嫌氣性菌ノ生物學的性狀ヲ應用スルニ依リ一定時間以後ヨリハ培養時間ノ經過スルニ從ヒ還元作用ハ更ニ増進スルモノナリ。

(7) (A) 本 *H. T* 培養法ト (B) *Mark, Shoetensack* 氏法、(C) 黃磷燃燒法、(D) 空氣置換法トヲ、各種培養基ニ於テ 37°C 、72時間培養シ各ソノ偏性嫌氣性菌發育狀態ヲ比較セシニ本 *H. T* 培養法ニ於ケル菌ノ發育狀態ハ他ノ嫌氣性培養法ニ比シ何等ノ遜色ヲ認メズ、却ツテ *Mark, Shoetensack* 氏法、空氣置換法トニ比シ良好ナルヲ認メ、黃磷燃燒法ニ對シテモ何等ノ優劣ヲ決シ難キ狀態ナリ。

(8) 本 *H. T* 培養法ニヨリ 37°C 、72時間培養セル各偏性嫌氣性菌ノ聚落所見及ビ菌形態學的性狀ヲ檢シタルニ各菌ノ聚落正常ニシテ著變ナク、又ぐらむ染色性、各菌共大部分陽性ヲ呈シ、僅カニ陰性菌ヲ認メル程度ナリ。且ツ各菌ノ配列、形態殆ンド正常ニシテ芽胞形成ハ72時間培養ニ於テハ認メザル菌多ク一般ニ芽胞形成ハ遲延ノ傾向アリ。

(9) 頸部放線狀菌病病竈ヨリ膿汁ヲ取りどる一ゼヲ集メ數回生理的食鹽水デ洗滌シおぶえくとぐらす上ニ載セ破碎シ本 *H. T* 培養法ニ於テ培養セルニ3—4日後ニ於テ漸ク肉眼的ニ認メ得ベキ灰白色ノ點狀集落ヲ發生シ9—10日培養ニ至リ初メテ帽針頭大ノ集落ヲ呈ス。即チ *H. T* 培養法ニ於テ放線狀菌ヲ9—10日間培養ヲ以テ充分ナル目的ヲ達シ得ルコトヲ實驗シ得タリ。

第7章 各種嫌氣性培養法ノ批判

固形培地ニ於ケル嫌氣性培養法ノ種類ハ種々アルモ其中代表トナスベキモノハ前記比較培養實驗ニ供シタル諸種ノ培養法ナリ、此等ニ就イテ簡單ニ批判ヲ試ミントス。

(1) *Buchner* 氏法及ビ其ノ變法ノ1種ナル *Mark, Shoetensack* 氏法ハ操作簡單ニシテ可成リ良好ノ培養成績ヲ得ルモ、培養中化學藥品ノ培地ニ流入スル疑ヒアリ。且ツめぢうむノ空氣ヲ乾燥セシメ、藥品ノ化學的變化ニ依ルめぢうむ中ノ空氣成分ノ變化ガ菌生存ニ多少惡影響ヲ及ボスモノノ如ク、爲ニ嫌氣性菌保存ニ良好ナラズ、又之ノ培養法ハ菌移植操作ニ不便アリ。

(2) 黃磷燃燒法ハ、菌發育時間最短ニシテ培養成績ハ良好ナルモ、培養ニ使用スル硝子製培養槽ノ製造ニ困難ナルト、黃磷ハ時局柄入手困難ニシテ取扱中爆發ノ危險性アリ、又黃磷ヲ長時日使用スル際ハ磷中毒ヲ招來スル危險アリ、且ツ培養操作複雑ナルヲ遺憾トス。

(3) 眞空法, 減壓法, 空氣置換法, 等ハ從來ヨリ多ク使用セラルルモ, 厚壁 硝子槽, 鐵製培養槽ヲ排氣ぼんぶニ接續シ槽内空氣ヲ抜き去リ眞空, 或ハ減壓トシテ培養スルカ又ハ水素瓦斯ヲ以テ置換スル法ニシテ, 之等ノ培養槽, 排氣ぼんぶハ入手困難ナルヲ以テ特別ノ研究室以外ハ使用シ得ズ, 殊ニ水素瓦斯置換法ハ培養槽内ノ空氣ヲ排氣シ殘留ノ空氣ハ放電ニ依リ游離酸素ヲ水素ト化合セシムル複雑ナル操作ヲ要シ且ツ濕氣過多ナルタメ, 培養菌ノ聚落獨立セズシテ往々 Rasen ヲ形成シ分離培養困難ナル缺點アリ, 尙菌ノ植繼時ニハ前者ト同様一々複雑ナル手段ヲ繰返スヲ要ス。

(4) 本 H. T 培養ハ裝置ノ新調ヲ要セズ, 且ツ廉價ニシテ入手容易ナル 平常市販ノ大小試験管ヲ要スルノミニシテ, 且ツ培養操作簡單ナリ, 又各嫌氣性菌ノ發育時間短ク而カモ培養成績最モ良好ナリ。

而シテ大試験管内ノ普通寒天斜面培地及ビ代用品タル硝子粒, 砂顆粒, 織物屑ぶいよん培地等ハ榮養素充分ニシテ通性嫌氣性菌(靈菌)ノ生存セル期間内ニハ何度モ新製セズシテ同一培地ヲ培養ニ使用シ得ルヲ經驗シ得タリ, 從ツテ本 H. T 培養法ハ設備完全ナル研究室以外何レノ場所ト雖モ應用シ所期ノ目的ヲ達シ得ル確實ナル嫌氣性培養法ナリト信ズ。又特ニ各菌株ノ保存的培養ノ目的ニ好適ナリ。

竊ツテ按ズルニ現下各部門ニ於イテ物質ノ節約ハ元ヨリ廢品ノ利用再生ヲ強調サル可キハ齊シク吾人ニ課セラルル所, 獨リ實驗室ノミ傍觀スベキニアラズ, 而カモ嫌氣性菌ノ研究ハ愈々其重キヲ加フルノ秋如斯基現狀ヲ持續センカ前途又計リ知ルベカラズ。茲ヲ以テ余ハ以上ノ目的ニ沿フベキ方法ノ案出ニ專念シ漸ク本編ニ述ベタル如キ最モ簡易ナル裝置ト少量ノ培地トヲ以ツテ在來ノ培養法ニ劣ル事ナク充分其ノ目的ヲ満足シ得ベキ結果ニ到達シ得タルヲ以ツテ取敢ズソノ一部ヲ茲ニ記述セントシタリ。

第 8 章 結 論

余ハ從來使用サル各種ノ嫌氣性菌培養法ヲ比較檢討シ, 其中 Fortner 氏培養法ニ着目シテ更ニ之ガ改良ヲ企テ, 裝置ノ簡單ト操作ノ容易ナル所謂 H. T 嫌氣性培養法ヲ案出シ, 之ニ就イテ培地及ビ酸素吸收法ノ吟味, 並ビニ在來ノ各種嫌氣性培養法トノ優劣ヲ論ジタリ。本培養法ノ 2, 3 要點ハ次ノ如シ。

- 1) 主ナル培養裝置ハ大小 2 個ノ試験管ヲ以テ足ル。
- 2) 酸素吸收用トシテノ通性嫌氣性菌ノ中靈菌, 大腸菌最モ良好ナリ。
- 3) 酸素吸收用培地トシテハ, 普通寒天斜面ノ外少量ノぶいよんニテ潤ホセル砂顆粒, 硝子粒並ニ織物屑ヲ以テ代用シ得。

- 4) 偏性嫌氣性菌培地トシテハ Zeissler 氏 2% 葡萄糖血液寒天最モ優ル。
- 5) 本法ハ他ノ培養法ニ比較シテ菌ノ發育形態聚落等ノ上ニ何等ノ遜色ヲ認メズ。寧ロ取扱便ナルト長期保存ノ點ニ於テ優越セリ。
- 6) 偏性嫌氣性菌ノ發育ハ周圍瓦斯めちうむ中ノ酸素ノ寡多ト略併行ス。
- 7) 本 H. T 培養法ニヨリ放線狀菌病竈ヨリ該菌ヲ容易ニ分離シ得タリ。

撰筆ニ際シ始終御懇篤ナル御指導御校閲ヲ賜リタル恩師、細川教授ニ滿腔ノ謝意ヲ表シ且ツ嫌氣性菌ヲ分譲サレシ金澤醫大谷教授並ニ傳研小島教授ニ深謝ス。尙ホ種々ナル御援助御助言ヲ惜マレザリシ當教室森講師並ニ他ノ教室員諸氏ニ對シ感謝ノ意ヲ表ス。

参 考 文 献

- 1) Pasteur, L.: C. R. Acad. Sci., 1863-56, 1189. (Cit. von System of Bacteriology 1929, 3, 225.)
- 2) Bollinger, O.: Deuts. Z. Thier-med. vergl. Path., 1, 297. (Cit. von System of Bacteriology 1929, 3, 223.)
- 3) Feser, J.: Z. prakt. Vet. Wiss. 1876, 13, 103. (Cit. von System of Bacteriology. (1929) 3, 225.)
- 4) Pasteur & Joubert: Bull. Acad. Med. 1877, 6, 781. (Cit. von System of Bact. (1929) 3, 225.)
- 5) Novy, F. G.: Z. Hyg. Infekt. Kht. 1894, 17, 209.
- 6) Weinberg & Sequin: C.R. Soc. Biol. 1915, 78, 274. (Cit. von System of Bact 1929, 3, 225.)
- 7) Weleh & Nuttall: John Hopk. Hosp. Bull. 1892, 3, 81.
- 8) Marwedel: Beitr. z. Klin. Chirurgie, 1918, 113, S. 433.
- 9) Buseh: Arch. f. klin. Chirurgie, 1917, 109, S. 63.
- 10) Franz: Über Gasentzündung. Beitr. z. klin. Chirurgie, 1917, 106, S. 1169.
- 11) Ivens: Kolle-Kraus u. Uhlenhdth; Hb. Path. Mikroorganism. Bd. I V. 2, S. 1154.
- 12) Chaliar-Chalies: ebenda
- 13) 篠尾: 陸軍軍醫團雜誌, 明治39年, 第150號, 243頁。
- 14) 明治三十七八年戰役衛生史, 第3卷, 第10冊。
- 15) 昭和三年支那事變衛生史, 第4篇, 第6節。
- 16) 佐々木: 金澤醫大十全會雜誌, 第37卷, 第3號, 昭和7年。
- 17) J. Zeissler, u. Rassfeld: Cit von Kolle, Kraus u. Uhlenhuth, Hb. d. Path. Mikroorg. Bd. X.S. 35. Bd. I V. S. 1097,
- 18) 佐々木: 金澤醫大十全會雜誌, 昭和8年, 第38卷, 第1號。
- 19) 大久保, 内野博: 海軍軍醫會雜誌, 第22卷, 第3號, 昭和8年。
- 20) 大久保: 海軍軍醫會雜誌, 第24卷, 第2號, 昭和10年。
- 21) Torrey: Proc. Soc. for exper. Biol. a. M. 1924, 22, P. 37.
- 22) Löhr u. Rassfeld: Ergeb. Hyg. Bakt. Immunitätsforschung u. expt. Therapie. Bd. 10, S. 488.
- 23) Van der Reis: Ergeb. d. Inn. Med. u. Kinderhkl, 1925, Bd. 27, S. 77.
- 24) Davidson: J. of Path. & Bakt. 1928 Vol. 31, P. 557.
- 25) 岡: 細菌學雜誌, 昭和二年, 373號, 103頁。
- 26) 白石: 實驗醫學雜誌, 昭和六年, 15卷, 993頁。
- 27) Nanna Svalz: Zbl. Bakt. Orig. 1932, Bd.125, S. 115.
- 28) 竹下: 衛生學傳染病學雜誌, 昭和7年, 第28卷, 第4號, 197頁。
- 29) Ruppert & Rottgardt: D. tierärztl. Wschr. 1926 S. 603.
- 30) Löhr: Hrgb. Hyg. u. Bakt. 1929 Bd. 10, S. 483.
- 31) C. Pieming: Zbl. Bakt. Orig. 1932, Bd. 124, S. 216.
- 32) Winkler: Bestimmung des Sauerstoffs im Wasser. Die Untersuchung und Beurteilung des Wassers und Abwassers (Ohrnüller u. Spitta.)
- 33)

- Gniewosz und Walfisz:** Über die Absorption von Gasen durch Petroleum. Ze't-ehr. f. physik. Chemie Bd. 1, 1887, S. 71. 34) 久保朝二: 京都醫學雜誌, 第21卷, 第1號, 大正12年. 35) **Alois Lode:** Zbl. f. Bakt. Orig. Bd. 95. 1925. 36) **Kovacs:** Zbl. f. Bakt. Orig. Bd.95, 1925. 37) **Rauschmann:** Zbl. f. Bakt. Orig. Bd.103, 1927. 38) 飯森正夫: 十全會雜誌, 第34卷, 臨時號, 111頁, 昭和4年. 39) 佐々木茂雄: 近世嫌氣性細菌學, 第1版, 17頁, 昭和9年. 40) **Smith:** J. of Hyg. Vol.22, No.3, S. 325. 1924. 41) 菊地齋: 衛生學傳染病學雜誌, 第24卷, 389頁, 昭和3年. 42) **Trenkmann:** Zbl. f. Bakt. Bd.23, S. 1038. 1898. 43) **Manteufel:** Zbl. f. Bakt. Orig. Bd.89. S.248. 1922. 44) **Frei u. Riedmüller:** Zbl. f. Bakt. Orig. Bd. 121. S. 97. 1931. u. ebend Bd. 119. S. 282. 1930., 45) 佐藤往來: 衛生試驗所彙報, 第30號, 61頁, 昭和2年. 46) **Hilgermann:** Ein neues Züchtungsverfahren der Spirochaeta pallida für Zwecke der aktiven Immunisierung, Deut. med. Wochenschr. Nr.20. S. 488. 1931. 47) **Tarozzi:** Zbl. Bakt. orig. Bd.38. S. 619. 1905. 48) **Hibler:** Pathogene Anaeroben. 1908. 49) **Wrzosek:** Zbl. Bakt. Orig. Bd. 43. S. 17. 1907. 50) **Wrzosek:** Zbl. Bakt. Orig. Bd.44. S. 607. 1907. 51) 細谷: 實驗醫學雜誌, 第10卷, 第3號, 231頁, 大正15年. 52) 細谷: 日新醫學, 第16卷, 第9號, 1539頁, 大正15年. 53) **Ehrisnann:** Zeitschr f. Hyg. n. Inf-krh. Bd. 118. S. 544. 1936. 54) 中村: 千葉醫學會雜誌, 第16卷, 第3號, 623頁, 昭和13年. 55) 佐多: 日本微生物學雜誌, 第30卷, 第2號, 232頁, 昭和11年. 56) **Kligler & Guggenheim:** J. Bakt. Vol. 35. P. 141. 1938. 57) 井上: 十全會雜誌, 第44卷, 第1號, 67頁, 昭和14年. 58) 酒井: 日本微生物學雜誌, 第34卷, 第12號, 987頁, 昭和15年. 59) **Böez:** Zbl. f. Bakt. Ref. Bd. 86. 1927. 60) **Kitt:** Zbl. f. Bakt. Orig. Bd. 103, 1927. 61) **Buchner:** Zbl. Bakt. Orig. Bd. 4. 149, 1888. 62) **Manteufel:** Zbl. f. Bakt. Orig. Bd. 89. S. 148. 1924. 63) 竹内: 近世細菌學及免疫學前篇, 第9版, 昭和13年. 64) 緒方: 醫事新聞, 第88號, 18頁, 昭和2年. 65) 田島: 東京醫事新誌, 第2769號, 14頁, 昭和7年. 66) 松本: 東京醫事新誌, 第2815號, 23頁, 昭和8年. 67) 登倉登: 東京醫事新誌, 第2828號, 13頁, 昭和8年. 68) **Sellards:** Some researches on anaerobic cultures with phosphorous. Zbl. f. Bakt. 1904. S. 632. 69) **Varney:** A simple method for cultivating anaerobes by means of phosphorus. J. of laboratory and clinical medicine. Vol. II. 1925-1926. p. 1183. 70) 柳澤利喜雄, 藤川, 柳澤朝一郎: 腸内菌叢ノ嫌氣性培養法ニ就テ, 千葉醫學會雜誌, 第11卷, 第6號, 1002頁, 昭和8年. 71) **Fostner:** Zbl. f. Bakt. Orig. Bd. 108, 155 1928. 72) **Weigmann:** Münch. med. Wochenschr. 1925. S. 1332. 73) 横山千代之助: 衛生學講義, 大正14年, 南江堂發行. 74) **Rijmsdijk:** Zbl. Bakt. Orig. Bd.88. S. 329. 1922. 75) **Rijmsdijk:** Z. Hyg. Bd. 96. S. 162. 1922. 76) **Fildes:** J. of exp. Path. Vol. 6. P. 62. 1925. 77) **Ruzicka:** Arch. f. Hyg. Bd. 58. 327. 1927. 78) **Mark Shoetensack:** 細菌學雜誌, 第409號, 50頁, 昭和5年.